



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**Aislamiento, cuantificación y evaluación de posibles antioxidantes
presentes en la semilla de mango mexicano residual
(*Mangifera indica* L.)**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA DE ALIMENTOS

PRESENTA

JAZMÍN PÉREZ RODRÍGUEZ

MÉXICO, D.F.

2016





Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO:

- **PRESIDENTE:** Profesor: HERMILO LEAL LARA
- **VOCAL:** Profesor: ANA ADELA SÁNCHEZ MENDOZA
- **SECRETARIO:** Profesor: LINO JOEL REYES TREJO
- **1er. SUPLENTE:** Profesor: JUAN DIEGO PALMA PÉREZ
- **2° SUPLENTE:** Profesor: ESMERALDA PAZ LEMUS

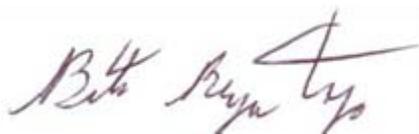
SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

1. LABORATORIO 208, DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÁNICA, FACULTAD DE QUÍMICA, UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
2. LABORATORIO DE PRODUCTOS NATURALES, ÁREA DE QUÍMICA DEPARTAMENTO DE PREPARATORIA AGRÍCOLA, UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

ASESOR DEL TEMA: **LINO JOEL REYES TREJO**

FIRMA

SUPERVISOR TÉCNICO: **BENITO REYES TREJO**



FIRMA

SUSTENTANTE (S): **JAZMÍN PÉREZ RODRÍGUEZ**

FIRMA

CONTENIDO

ÍNDICE.....	I
ÍNDICE DE GRAFÍCAS.....	IV
ÍNDICE DE TABLAS.....	VII
ÍNDICE DE FIGURAS.....	X

ÍNDICE

0	RESUMEN.....	1
1	INTRODUCCIÓN.....	2
2	OBJETIVO.....	5
2.1	Objetivo general.....	5
2.2	Objetivos particulares.....	5
3	HIPÓTESIS.....	5
4	MARCO TEÓRICO.....	6
4.1	Residuos.....	6
4.1.1	Generación de residuos.....	7
4.1.2	Residuos de alimentos.....	8
4.1.3	Valorización de residuos.....	10
4.2	Antioxidantes.....	14
4.2.1	Clasificación de antioxidantes.....	15

4.3	Tecnologías para la recuperación de compuestos de alto valor agregado presentes en los residuos de alimentos.....	20
4.4	Tecnologías para la Cuantificación de polifenoles y Actividad antioxidante.....	24
4.4.1	Cuantificación de polifenoles.....	24
4.4.2	Métodos para la evaluación de la actividad antioxidante.....	26
4.5	Estabilidad oxidativa y vida útil.....	29
4.6	Mango ataulfo (<i>Mangifera indica</i> L.).....	32
4.6.1	Clasificación y descripción botánica.....	32
4.6.2	Origen.....	34
4.6.3	Producción.....	34
4.6.4	Propiedades Nutricionales y Funcionales del Mango Ataulfo.	35
5	METODOLOGÍA.....	38
5.1	Materia vegetal.....	38
5.2	Equipos y reactivos.....	38
5.3	Selección, limpieza y secado de las semillas.....	40
5.4	Determinación de características físicas de las semillas.....	40
5.5	Molienda y Determinación de humedad.....	40
5.6	extracción del aceite de las almendras.....	40
5.7	Extracción de antioxidantes de las semillas de mango.....	41
5.7.1	Cuantificación de polifenoles por el método de Folin-Ciocalteu	42

5.7.2 Evaluación de la actividad antioxidante con el reactivo de DPPH	44
5.8 Evaluación de la estabilidad oxidativa de un aceite comercial empleando extractos de almendra residual de <i>Mangifera indica</i> L.	46
5.8.1 Índice de acidez.....	47
5.8.2 Índice de yodo.....	47
5.8.3 Índice de peróxidos.....	48
5.9 Diagrama general del proceso.....	49
6 RESULTADOS Y ANÁLISIS.....	50
6.1 Caracterización física de la semilla de mango (<i>Mangifera indica</i> L.)	50
6.2 Determinación de la humedad y extracción del aceite de la semilla de mango residual.....	51
6.3 Cuantificación de polifenoles por el método de Folin-Ciocalteu	52
6.4 Evaluación de la actividad antioxidante con DPPH.....	57
6.5 Estabilidad oxidativa inducida por antioxidante.....	62
6.6 Índice de Acidez.....	62
6.7 Índice de Yodo.....	64
6.8 Índice de Peróxidos.....	66
7 CONCLUSIONES.....	70
8 BIBLIOGRAFÍA.....	72
9 ANEXO.....	90

ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfica 1. Polifenoles presentes en los extractos de almendra residual de mango ataulfo, empleando la extracción asistida por ultrasonido. El método empleado fue el de Folín-Ciocalteu (concentración expresada en mg de equivalentes de ácido gálico sobre gramo de muestra seca, mg EAG/g).....	54
Gráfica 2. Polifenoles presentes en los extractos de almendra residual de mango ataulfo, empleando la extracción por Soxhlet y sonicación. El método empleado fue el de Folín-Ciocalteu, (concentración expresada en mg de equivalentes de ác. Gálico).....	56
Gráfica 3. Actividad antioxidante presente en los extractos de almendra residual de mango ataulfo, empleando la extracción asistida por ultrasonido. El método empleado fue método de inhibición del radical DPPH (concentración expresada en μM de equivalentes de trolox / g de muestra).....	58
Gráfica 4. Índice de yodo de las diferentes muestras a través del tiempo usando como control aceite de oliva extra virgen, aceite de oliva extra virgen adicionado con 94 ppm del extracto de semilla de almendra de mango residual y aceite de oliva extra virgen adicionado con 94 ppm BHT (Butilhidroxitolueno) a una temperatura de 40 °C.....	65
Gráfica 5. Índice de peróxidos de las diferentes muestras a través del tiempo usando como control aceite de oliva extra virgen, aceite de oliva extra virgen adicionado con 94 ppm del extracto de semilla de almendra de mango residual y aceite de oliva extra virgen adicionado con 94 ppm BHT (Butilhidroxitolueno) a una temperatura de 40 °C.....	67

Gráfica 6. Curva patrón de ácido gálico en agua para le determinación de polifenoles totales por el método de Folín-Ciocalteu.....	90
Gráfica 7. Prueba de actividad antioxidante usando trolox en agua	92
Gráfica 8. Prueba de actividad antioxidante, extracción asistida Soxhlet utilizando la muestra 1.....	92
Gráfica 9. Prueba de actividad antioxidante, extracción asistida Soxhlet utilizando la muestra 2.....	93
Gráfica 10. Prueba de actividad antioxidante, extracción asistida Soxhlet utilizando la muestra 3.....	93
Gráfica 11. Prueba de actividad antioxidante, extracción asistida por 15 minutos de ultrasonido, utilizando la muestra 1.....	94
Gráfica 12. Prueba de actividad antioxidante, extracción asistida por 15 minutos de ultrasonido, utilizando la muestra 2.....	94
Gráfica 13. Prueba de actividad antioxidante, extracción asistida por 15 minutos de ultrasonido, utilizando la muestra 3.....	95
Gráfica 14. Prueba de actividad antioxidante, extracción asistida por 25 minutos de ultrasonido, utilizando la muestra 1.....	96
Gráfica 15. Prueba de actividad antioxidante, extracción asistida por 25 minutos de ultrasonido, utilizando la muestra 2.....	96
Gráfica 16. Prueba de actividad antioxidante, extracción asistida por 25 minutos de ultrasonido, utilizando la muestra 3.....	97
Gráfica 17. Prueba de actividad antioxidante, extracción asistida por 35 minutos de ultrasonido, utilizando la muestra 1.....	97

Gráfica 18. Prueba de actividad antioxidante, extracción asistida por 35 minutos de ultrasonido, utilizando la muestra 2.....	97
Gráfica 19. Prueba de actividad antioxidante, extracción asistida por 35 minutos de ultrasonido, utilizando la muestra 3.....	98
Gráfica 20. Prueba de actividad antioxidante, extracción asistida por 45 minutos de ultrasonido, utilizando la muestra 1.....	98
Gráfica 21. Prueba de actividad antioxidante, extracción asistida por 45 minutos de ultrasonido, utilizando la muestra 3.....	99
Gráfica 22. Prueba de actividad antioxidante, extracción asistida por 45 minutos de ultrasonido, utilizando la muestra 3.....	99

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Principales Estados que producen Mango.....	36
Tabla 2. Caracterización física de la semilla de mango Mangifera indica L.....	51
Tabla 3. Contenido total de aceite (g de aceite/100g de base seca) en la semilla de Mangifera indica L. de diferentes regiones.....	52
Tabla 4. Análisis estadístico ANOVA para la prueba de polifenoles totales utilizando la extracción asistida por ultrasonido a diferentes tiempos. Esta prueba estadística se realizó con un nivel de significancia de 0.05%.....	55
Tabla 5. Matriz de la prueba de Tukey para la prueba de polifenoles totales. Nivel de significancia de 0.05% y una diferencia honestamente significativa de 0.46.....	55
Tabla 6. Análisis estadístico ANOVA para la prueba de polifenoles totales. Esta prueba estadística se realizó con un nivel de significancia de 0.05%.....	57
Tabla 7. Análisis estadístico ANOVA para la prueba de actividad antioxidante utilizando la extracción asistida por ultrasonido a diferentes	

tiempos. Esta prueba estadística se realizó con un nivel de significancia de 0.05%.....	59
Tabla 8. Matriz de la prueba de Tukey para la prueba de actividad antioxidante. Nivel de significancia de 0.05% y una diferencia honestamente significativa del 5.5.....	60
Tabla 9. Análisis estadístico ANOVA para la prueba de actividad antioxidante utilizando DPPH. Esta prueba estadística se realizó con un nivel de significancia de 0.05%.....	61
Tabla 10. Análisis estadístico de ANOVA para la prueba de acidez en el día 35, con un nivel de significancia del 0.05%.....	64
Tabla 11. Matriz de la prueba de Tukey para los datos obtenidos en el ensayo de acidez. Esta prueba de estadística se realizó con un nivel de significancia de 0.05% y una diferencia honestamente significativa de 0.04.....	65
Tabla 12. Análisis estadístico de ANOVA para la prueba de índice de yodo en el día 35, con un nivel de significancia del 0.05%.....	66
Tabla 13. Matriz de la prueba de Tukey para los datos de índice de yodo. Esta prueba de estadística se realizó con un nivel de significancia de 0.05% y una diferencia honestamente significativa de 7.6.....	67
Tabla 14. Análisis estadístico de ANOVA para la prueba de índice de peróxidos en el día 35, con un nivel de significancia del 0.05%....	68
Tabla 15. Matriz de la prueba de Tukey para los datos de índice de peróxidos. Esta prueba de estadística se realizó con un nivel de significancia de 0.05% y una diferencia honestamente significativa de 0.67.....	69

Tabla 16. Resumen de resultados de las pruebas efectuadas para la estabilidad oxidativa.....	69
Tabla 17. Cantidad de muestra utilizada para obtener los extractos acuosos por Soxhlet.....	91
Tabla 18. Absorbancias obtenidas para cada extracto en la prueba de polifenoles totales.....	92
Tabla 19. Cantidad de muestra utilizada para obtener los extractos acuosos por ultrasonido.....	92
Tabla 20. Absorbancia de cada extracto utilizando la extracción asistida por ultrasonido en la prueba de polifenoles totales.....	92

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Clasificación de los residuos según su origen.....	7
Figura 2. La jerarquía de residuos.....	9
Figura 3. Ciclo de la valorización de residuos.....	10
Figura 4. Estructura química de la hesperidina.....	14
Figura 5. Un antioxidante extrínseco (flavona).....	15
Figura 6. Un antioxidante primario (resveratrol).....	16
Figura 7. Estructuras de antioxidantes sintéticos.....	16
Figura 8. Clasificación de los antioxidantes naturales.....	17
Figura 9. Un antioxidante natural (β -caroteno).....	18
Figura10. Estructura del fenol.....	18
Figura 11. Estructuras de ácidos fenólicos.....	19

Figura 12. Estructura de un antioxidante flavonoide (antocianina)..	19
Figura 13. Estructura de un tanino condensado.....	20
Figura 14. Estructura de un lignano.....	20
Figura 15. Tipos de extracción por microondas.....	22
Figura 16. Tipos de sonicadores.....	24
Figura 17. Ácido gálico.....	26
Figura 18. Estructura del reactivo DPPH antes y después de reaccionar.....	29
Figura 19. Clasificación botánica del Mango (CABI, 2010).....	33
Figura 20. Mango ataulfo (Mangifera indica L.).....	34
Figura 21. Aspecto de las semillas y almendras de Mangifera indica L.	51
Figura 22. Extracción de aceite por el método de Soxhlet en las almendras residuales de mango ataulfo (Mangifera indica L.).....	53

RESUMEN

La oxidación lipídica es uno de los factores principales que resultan en pérdidas en la calidad de los alimentos. Por lo tanto, la búsqueda de antioxidantes naturales es de suma importancia. El mango ataulfo (*Mangifera indica* L.) es un fruto de los más importantes a nivel mundial. Los subproductos agrícolas representan un grave problema de contaminación ambiental. En el caso del mango un porcentaje que varía del 35% al 60% del peso total del fruto corresponde a los subproductos. El presente trabajo tiene como objetivo la extracción de compuestos polifenólicos con actividad antioxidante, a partir de la almendra residual de mango ataulfo (*Mangifera indica* L.), aprovechando de manera sustentable éstos residuos orgánicos. Para determinar el método con mayor eficiencia en la extracción de compuestos se realizó una comparación entre las técnicas de soxhlet y sonicación. Para la extracción asistida por sonicación se realizaron pruebas preliminares con el fin de determinar el mejor tiempo de extracción de compuestos (15, 25, 35 y 45 minutos de sonicación). Se determinó la concentración de polifenoles totales y actividad antioxidante con un valor de 32.8 mg EAG/g de muestra y 215.37 μ M equivalentes de trolox/g de muestra, respectivamente en comparación al extracto obtenido por soxhelt. Posteriormente se realizó una comparación entre éste extracto y un antioxidante sintético BHT para determinar la efectividad en la estabilización de aceites vegetales, el extracto obtenido a partir de la almendra residual de mango demostró una mejor eficiencia al retardar los procesos oxidativos, en consecuencia conservando mejor el aceite de oliva extra virgen.

1 INTRODUCCIÓN

Para satisfacer sus necesidades, los seres humanos han establecido un complejo sistema de producción y consumo, en el que los insumos o materiales y la energía utilizados son consumidos sólo en forma parcial. La diferencia entre el total utilizado y lo efectivamente consumido se denomina residuos, los cuales se han transformado en uno de los principales problemas ambientales a los que se enfrentan las grandes ciudades, ya que la generación de desechos evoluciona conjuntamente con la urbanización y la industrialización.

Cuando la generación de estos residuos es inevitable, deben pasar a ser considerados como un recurso a partir del cual pueden ser recuperados compuestos de valor agregado. A este proceso de tratamiento de residuos y recuperación de compuestos se denomina proceso de valorización de los residuos.

El desarrollo de la industria sustentable se basa en la eficiente explotación de los residuos agrícolas y forestales, biomasa acuática, de desechos, por medio de biorrefinería integrada, extracción de productos de especialidad y la conversión a través de la química verde o procesos biotecnológicos.

El sector de los productos vegetales procesados agrupa las actividades relacionadas con la conserva, congelados, zumos, concentrados y néctares de frutas y hortalizas. La actividad de esta industria genera cantidades importantes de residuos y subproductos orgánicos que pueden generar, si se gestionan adecuadamente, un beneficio económico y ambiental.

1. INTRODUCCIÓN

La obtención de una adecuada tecnología que permita transformar estos residuos y subproductos orgánicos en productos que generen un beneficio económico y ambiental es la clave para obtener su máximo potencial no simplemente la alimentación animal de forma directa o su gestión final a vertedero.

Una vez utilizando la tecnología más adecuada para la extracción de compuestos (p. ej., polifenoles, vitaminas, compuestos aromáticos, **etc...**), éstos pueden ser utilizados en diversos tipos de industria, como es la industria alimentaria (humana y animal), farmacéutica, química.

Algunos de estos compuestos son de naturaleza conocida, aunque existan otros muchos que esperan su identificación y posterior explotación por la industria, para elaborar productos novedosos y competitivos en el mercado.

Tal es el caso de los residuos provenientes de la manzana, los cuales han mostrado ser ricos en polifenoles principalmente en la piel. La mayor cantidad de compuestos aislados e identificados son catequinas, hidroxycinamatos, procianidinas, entre otros compuestos. Estos compuestos han demostrado tener una fuerte actividad antioxidante en estudios in vitro. Por otro lado los residuos provenientes de los cítricos son en su mayoría piel y semillas. Los productos de estos residuos más estudiados han sido la pectina, la fibra, y aceites esenciales como el D-limoneno, y flavonoides. En el caso de los residuos de la uva, se obtienen una gran cantidad de productos como son el ácido tánico, gálico, vinílico, caféico.

México es uno de los principales países productores de mango (*Mangifera indica* L.), del cual se aprovecha principalmente la pulpa con fines alimenticios. El 60% del peso total del fruto corresponde a los subproductos de la transformación, los cuales son considerados residuos

1. INTRODUCCIÓN

indeseables. Sin embargo, estos residuos contienen cantidades importantes de pectina, ácidos grasos poliinsaturados y compuestos de naturaleza fenólica con actividad antioxidante, antimicrobiana y antiinflamatoria, por lo que proporciona un valor agregado al alimento.

En años recientes se han estudiado los antioxidantes de origen natural con el propósito de generar compuestos más seguros y efectivos que puedan sustituir a los antioxidantes sintéticos que actualmente se utilizan como conservadores de alimentos (BHA y BHT). Sin embargo, existen restricciones en cuanto a su utilización, considerando el daño que pueden generar al organismo humano, tomando en cuenta estudios toxicológicos recientes.

Si bien, se han realizado estudios de cuantificación de antioxidantes en mangos cultivados en México, a la fecha no existen estudios de este fruto relacionados con antioxidantes presentes en sus productos de desecho. El presente trabajo tiene como objetivo principal; extraer, cuantificar y evaluar la actividad antioxidante de los polifenoles presentes en la almendra de semilla residual del mango mexicano, con el propósito de evaluar su posible uso como antioxidante en un aceite comestible.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL

Extraer compuestos antioxidantes de naturaleza polifenólica, a partir de la almendra de mango ataulfo nacional (*Mangifera indica L.*), aprovechando de manera sustentable estos residuos orgánicos.

2.2 OBJETIVOS PARTICULARES

- Obtener extractos a partir de la almendra residual de mango, empleando los métodos de soxhlet y sonicación, utilizando agua como disolvente y determinar qué proceso presenta mayor cantidad de polifenoles totales y actividad antioxidante, empleando los métodos de Folín-Ciocalteu y DPPH respectivamente.
- Obtener extractos a partir de la almendra residual de mango, utilizando diferentes tiempos de sonicación, utilizando agua como disolvente y determinar cuál extracto presenta mayor cantidad de polifenoles totales y actividad antioxidante, empleando los métodos de Folín-Ciocalteu y DPPH respectivamente.
- Evaluar la estabilidad oxidativa del extracto con mayor cantidad de polifenoles totales y actividad antioxidante, empleando una muestra de aceite comercial y compararla con la de un antioxidante sintético de uso común.

3 HIPÓTESIS

Proponer a la almendra de mango ataulfo (*Mangifera indica L.*) de origen nacional, como una fuente alternativa de antioxidantes naturales, utilizando agua como disolvente para optimizar el proceso de extracción.

4 MARCO TEÓRICO

En una era de paradojas, el 15% de la población de distintos países sufre de hambre, mientras que en otra parte del mundo el alimento se consume excesivamente, provocando un aumento de la cantidad de residuos orgánicos (FAO, 2014).

4.1 RESIDUOS

Con frecuencia, al hablar sobre el tema de residuos, se utiliza en forma indistinta los términos: subproductos, residuos y desechos, sin importar que existe **una diferencia conceptual entre ellos. Un "subproducto" es un producto secundario, bien conocido, generalmente útil, comercializable y por lo tanto con valor agregado, que resulta de un proceso industrial. El término "residuo", se aplica a aquello que puede tener o no un valor comercial, porque son poco comunes o porque se generan en bajas cantidades, sin embargo, algunos de sus constituyentes, aún en baja proporción, pueden tener un alto valor agregado. Desde este punto de vista, los términos "subproducto" y "residuo" podrían utilizarse como sinónimos, sin embargo el término "desecho", se refiere a aquellos materiales que no tienen algún valor comercial, ni poseen atributos de interés para ser utilizados en algún proceso, por lo que se consideran basura y deben dárseles una disposición final (Saval, 2012).**

Existen diferentes tipos de residuos que pueden ser clasificados de acuerdo a su origen como: residuos industriales, sanitarios, agroindustriales y residuos sólidos urbanos, esto basado en su origen (Figura 1) (Casas & Sandoval, 2014).



Figura 1. Clasificación de los residuos según su origen

4.1.1 Generación de residuos

Los residuos son productos de las relaciones económicas y sociales de todos los seres humanos; se generan en diversos puntos de la cadena productiva y de consumo, para la satisfacción de necesidades de primer orden y demás (Viveros, 2013).

4.1.1.1 Producción de residuos de alimentos a nivel mundial

La pérdida mundial de alimentos es estimada en 1.3 billones de toneladas por año, esto es igual a un tercio de la producción global (Kojima & Ishakawa, 2013). En los Estados Unidos casi 61 millones de toneladas de basura de alimentos son generados cada año, mientras que en Australia se producen 4 millones de toneladas (GMA, 2012). Por otra parte, Corea del Sur, con 6.24 millones de toneladas de residuos alimenticios por año (Hou, 2013), China con 92.4 millones de toneladas por año (Lin, et al., 2011) y Japón genera aproximadamente 21 millones de toneladas de residuos alimenticios (Kojima & Ishakawa, 2013). En Europa, la generación de residuos de alimentos es estimada en 90 millones de toneladas por año. Estudios indican que el Reino Unido desecha 14 millones de toneladas de residuos alimenticios anuales, esto quiere decir

4. MARCO TEÓRICO

que cada hogar genera alrededor de 160 Kg de residuos alimenticios por año. Estas cifras colocan al Reino Unido como el principal generador de residuos alimenticios en Europa (Giroto, et al., 2015). Por otro lado, en países como Subsahariana en África y en el Sudeste de Asia, se generan por año entre 6 y 11 Kg de residuos alimenticios (Thi, 2015).

4.1.1.2 Producción de residuos a nivel nacional

La mayor parte de los residuos generados en el país son llevados a vertederos, lo que representa un problema, ya que en México se generan alrededor de 95 mil toneladas diarias de residuos orgánicos que representa una acumulación anual de 40 millones de toneladas (SEMARNAT, 2013). La regulación del manejo y disposición de estos residuos en México es relativamente nueva (aproximadamente 20 años). En esta normatividad se han decretado una serie de leyes donde se definen las características de los residuos, es decir, una clasificación con la cual se decide si son aptos para ser reutilizados, o si es necesario un proceso especial para tratarlos y que no representen un riesgo para la salud humana o para el medio ambiente (LGPGIR, 2012).

4.1.2 Residuos de alimentos

Los residuos alimentarios se pueden definir como materia orgánica generada en las diferentes etapas de la cadena del procesamiento de productos destinados al consumo humano. Estos materiales pueden reciclarse o ser utilizados para otros fines (Ki Lin, 2013).

El problema al que se enfrentan los residuos de alimentos es que no existe una clara conciencia ambiental para su manejo, además de la falta de capacidad tecnológica y de recursos económicos para darles un destino final, así como una legislación específica para promover la gestión de este tipo de residuos, que asegure un buen manejo desde su generación hasta su disposición final (Saval, 2012).

4. MARCO TEÓRICO

En este contexto, los residuos de alimentos, emergen como una materia prima para ser empleados en la producción de derivados químicos y combustibles. El manejo integral de los residuos de alimentos **comúnmente está relacionado con el término "jerarquía del manejo de residuos"** señalado en la Figura 2. Esta jerarquía da prioridad a las opciones del manejo de residuos en un orden de preferencia, la cual parte de la prevención de la generación de éstos, de su reuso, reciclaje, valorización, recuperación de energía y por ultimo su disposición (Ki Lin, 2013).



Figura 2. La jerarquía de residuos

4.1.3 Valorización de residuos

La recuperación de componentes de alto valor agregado presentes en los residuos de alimentos, podría ser una opción económica viable debido a la alta demanda de nuevos aditivos en las industrias alimentaria y farmacéutica. Los compuestos presentes en los residuos de alimentos

4. MARCO TEÓRICO

pueden ser separados de la matriz en la que se encuentran, seleccionando el método de extracción adecuado que no afecte a la molécula de interés (Figura 3). Además, el proceso de extracción debe ser rentable y amigable con el ambiente (Pfaltzgraaf, et al., 2013).

Actualmente, un gran número de investigaciones se han enfocado en la optimización de las condiciones de extracción en diferentes tipos de residuos de alimentos, empleando tecnologías convencionales o emergentes (Baiano, et al., 2014).

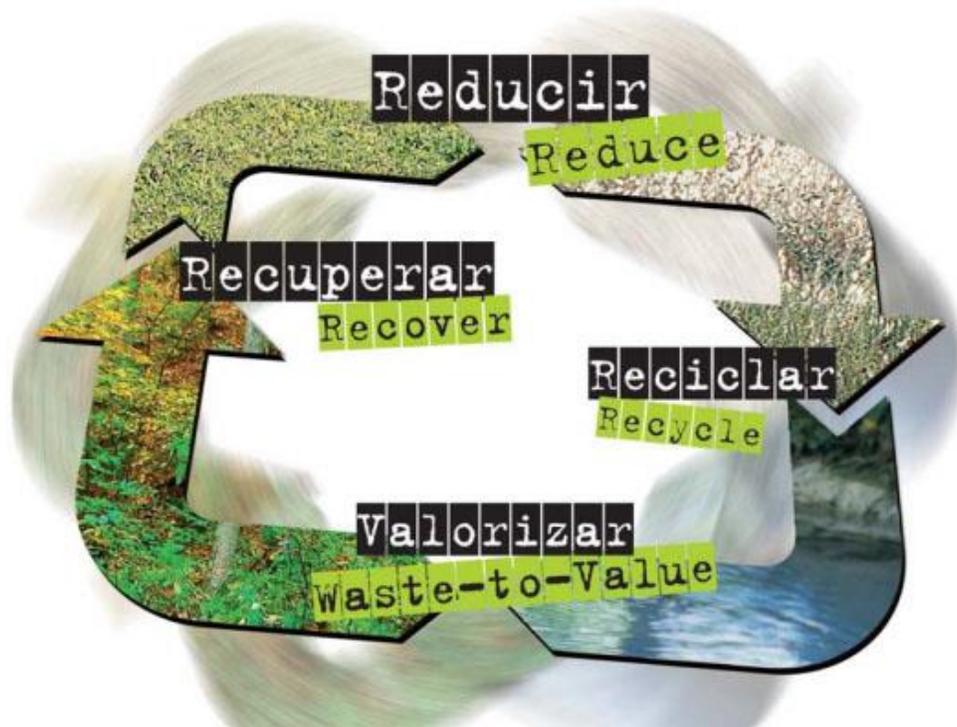


Figura 3. Ciclo de la valorización de residuos

4.1.3.1 Criterios de selección de residuos con fines de aprovechamiento

Al paso de los años se han definido criterios de selección de los residuos para ser aprovechados con fines biotecnológicos (Saval, 2012). Algunos de ellos son:

4. MARCO TEÓRICO

- Que el material pueda ser sometido a extracciones para recuperar alguno de sus componentes que tenga un mercado demandante.
- Que el residuo esté disponible localmente y en las cantidades necesarias para asegurar la fabricación de un producto de interés.
- Que no tenga otras aplicaciones o usos que compitan con el proceso que se pretende promover.
- Que no requiera pre-tratamiento, y en caso de requerirlo, que éste sea sencillo y económico.
- Que la disponibilidad del residuo permita planificar el proceso para el cual se va a utilizar.
- Que sea estable, es decir, que no se descomponga fácilmente bajo las condiciones ambientales del sitio donde se genera.

4.1.3.2 Residuos alimentarios como sustrato para la generación de bioenergéticos

Actualmente, los biocombustibles son uno de los componentes más importantes de las energías renovables (Timilsina, 2011). Estos se producen a partir de cultivos alimentarios, principalmente azúcares, granos y semillas, empleando tecnología convencional como la fermentación, transesterificación y la digestión anaerobia (Cheng, 2011). Existe una alternativa para no producir biocombustibles a partir de estos alimentos, sino con residuos de la industria de alimentos. Actualmente se

4. MARCO TEÓRICO

ha desarrollo biocombustibles a partir de desechos orgánicos, como cáscaras de frutas o aceite quemado (Espinoza de Aquino, et al., 2015). En Taiwan se han utilizado residuos de la paja de arroz, para producir biohidrógeno por medio de una fermentación anaerobia (Chang, et al., 2011).

Otro grupo de investigación, ha utilizado vinazas provenientes de la elaboración del tequila, para la producción de biohidrógeno, los resultados demostraron la factibilidad del proceso sin necesidad de un tratamiento previo del residuo (Buitron & Carvajal, 2010). También se ha estudiado la producción de este utilizando suero de queso y una cepa mejorada genéticamente de *Escherichia coli* (Rosales, et al., 2010). Utilizando una cepa de *Clostridium acetobutylicum* se ha producido acetona-butanol a partir de residuos de mazorcas y olote, (Marchal, et al., 1992).

Por otra parte en México se ha se evaluado la capacidad fermentativa de diferentes cepas de levaduras para la producción de bioetanol a partir de hidrolizados de bagazo de caña, para la obtención de azúcares fermentables, se utilizaron diferentes métodos de hidrólisis para el bagazo de caña (Nuñez, et al., 2013).

Los aceites y grasas provenientes de residuos sólidos orgánicos industriales también presentan una opción viable para la producción de biodiesel. En la industria alimentaria se pueden aprovechar los residuos orgánicos generados como las semillas de frutas utilizadas para la elaboración de jugos y néctares (Ocampo, 2007).

4.1.3.3 Residuos de Alimentos vegetales como materia prima para la obtención de productos de alto valor agregado

Las enzimas son proteínas que se encuentran ampliamente distribuidas en la naturaleza y han sido utilizadas a lo largo de la historia, principalmente en las industrias alimentaria y farmacéutica. Su uso, en la extracción de compuestos es una alternativa ecológicamente amigable en

4. MARCO TEÓRICO

comparación con los métodos de extracción tradicionales que utilizan disolventes. Por lo tanto, las enzimas pueden utilizarse en el pretratamiento de residuos, la extracción de compuestos e incluso en la modificación y síntesis de nuevas moléculas a partir de los éstos compuestos (Casas & Sandoval, 2014).

Se ha reportado, que la producción de proteasas de *Aspergillus oryzae* en fermentación sólida de residuos provenientes de la extracción de aceite de *Jatropha curcas*; las proteasas producidas pueden ser de gran utilidad en la industria de alimentos (Thanapimmentha, et al., 2012).

Con una cepa de *Penicillium simplicissimum*, se obtuvieron lipasas a partir de la fermentación sólida de residuos de semillas de ricino resultantes de la extracción del aceite (Godoy, et al., 2009). Los residuos de piña y tallos de caña de azúcar fueron aprovechados por una cepa de *Gluconacetobacter swingsii* para la producción de celulosa para ser utilizada como materia prima en la industria química (Castro, et al., 2011). Por otra parte, empleando la cepa *Trichoderma harzianum* en residuos de cítricos y lodos resultantes de su industrialización, se obtuvo un bioplaguicida utilizado para el control de plagas en plantaciones de melón (Lopez, et al., 2010).

En el caso de los productos nutraceuticos, los cuales no son nutrientes asociados con deficiencias en la dieta, sin embargo, son compuestos cuyo consumo ha sido asociado con la prevención y el tratamiento de enfermedades. En general, estos productos son extraídos de alimentos o residuos de alimentos (Galanikis, 2013). Por ejemplo: los flavonoides, los cuales se encuentran presentes en las cáscaras de cítricos, siendo la hesperidina (Figura 4) la que se encuentra en mayor proporción (Güemez, 2010). La hesperidina muestra propiedades antiinflamatorias, anticancerígena, analgésicas y antitrombóticas y se obtiene a través de una extracción con solventes orgánicos (Nielsen & Chee, 2006) (Güemez, 2010).

4. MARCO TEÓRICO

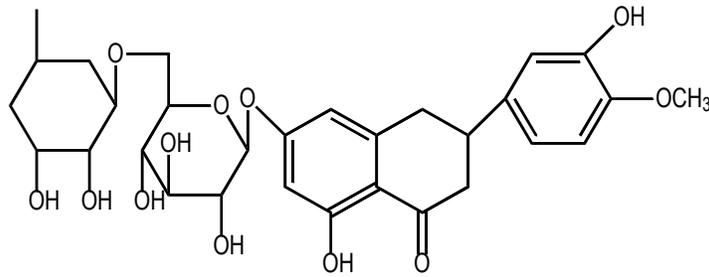


Figura 4. Estructura química de la hesperidina

Otro compuesto nutracéutico importante es el licopeno, el cual es el carotenoide responsable del color rojo de los tomates, se ha descrito la utilización de orujo de tomate como sustrato para la producción de vitamina B₁₂ (Shi, 2003).

A partir de residuos de café y frijol se obtienen ácidos clorogénicos y antocianinas, que tienen propiedades antioxidantes. Cabe señalar que, igualmente, la cascarilla de la leguminosa, se han obtenido colorantes (UNAM, 2015).

4.2 ANTIOXIDANTES

Dentro de los componentes nutrimentales de los alimentos, los lípidos son susceptibles a la descomposición por agentes oxidantes. Por esta razón es común la adición de antioxidantes a este tipo de alimentos, cuya función es retardar el deterioro, rancidez o decoloración y así incrementar su vida útil (Fennema, 1998).

Los antioxidantes previenen o retardan la oxidación debido a que se combinan preferentemente con los radicales libres para formar moléculas menos reactivas (Landines & Zambrano, 2009). En la naturaleza existe una amplia gama de antioxidantes que se han generado a lo largo del tiempo, con el propósito de proteger a las células del estrés oxidativo. De esta manera, los seres vivos se han adaptado al medio ambiente oxidante en el que se han desarrollado (Oroian & Escriche, 2015).

4.2.1 Clasificación de antioxidantes

Los antioxidantes sintetizados por el cuerpo son llamados antioxidantes intrínsecos y no dependen del contenido nutricional de la dieta (superóxido dismutasa, glutatión peroxidasa), en cambio, los antioxidantes extrínsecos se obtienen de los alimentos consumidos ya que el cuerpo no los puede sintetizar. Los 5 principales grupos de antioxidantes extrínsecos son: vitaminas, cofactores minerales, carotenoides, flavonoides, (figura 5) entre otros (Govardhan, 2013).

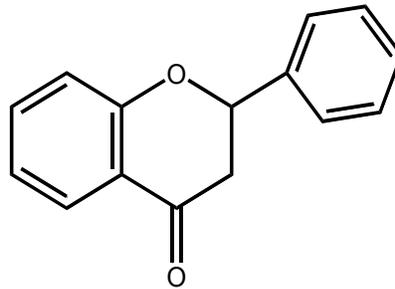


Figura 5. Un antioxidante extrínseco (flavona)

Los antioxidantes que pueden inhibir o retardar la oxidación son de dos tipos: los que captan radicales libres (antioxidantes primarios) y aquellos que no están relacionados con este proceso (antioxidantes secundarios). Los primeros incluyen compuestos fenólicos, los cuales reaccionan en la etapa de iniciación de la cadena de reacción (Figura 6). Por otro lado, los secundarios reaccionan mediante hidroperóxidos, formando especies no radicales o desactivando el oxígeno (Sayed, 2013).

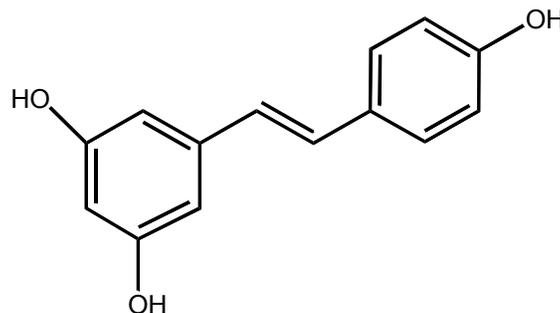


Figura 6. Un antioxidante primario (resveratrol)

4. MARCO TEÓRICO

Los antioxidantes sintéticos (Figura 7) son moléculas obtenidas mediante procesos químicos, sin embargo, se han impuesto medidas de precaución con respecto a su uso y se ha restringido su empleo debido a su toxicidad (Sang-Hee, 2005). Los antioxidantes sintéticos más utilizados son: butilhidroxianisol (BHA), butilhidroxitolueno (BHT), butilhidroquinona terciaria (TBHQ) y los ésteres del ácido gálico, como el galato de propilo (Landines & Zambrano, 2009).

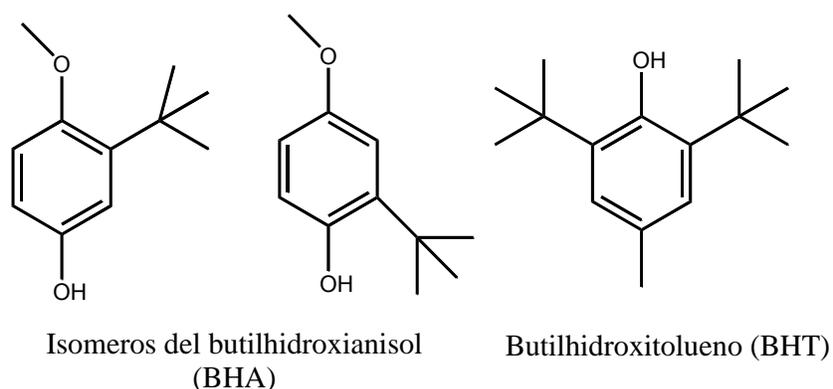


Figura 7. Estructuras de antioxidantes sintéticos

El uso de antioxidantes sintéticos está restringido en varios países, debido a los posibles efectos negativos que pueden generar a la salud humana. Por tal razón, ha surgido un gran interés por la obtención y utilización de antioxidantes naturales debido a que, por ser de origen vegetal, se consideran más seguros (Landines & Zambrano, 2009).

Los antioxidantes naturales (Figura 8) incluyen, varios tipos de compuestos, los cuales pueden ser moléculas muy sencillas (polifenoles y vitaminas) o moléculas muy complejas (enzimas) (Singh, 2013) (Badui, 2006).

4. MARCO TEÓRICO

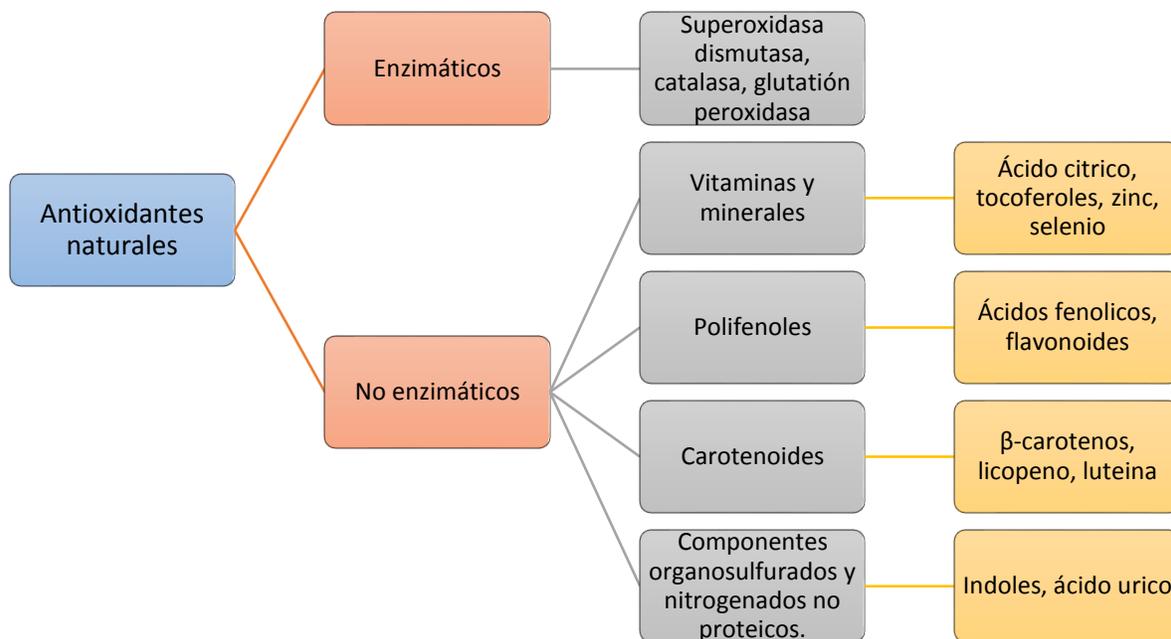


Figura 8. Clasificación de los antioxidantes naturales

Los carotenoides son un grupo de antioxidantes naturales sintetizados por plantas y algunos microorganismos (Figura 9). Estos antioxidantes se dividen en dos grupos: carotenos (licopeno, B-carotenos) y xantofilas. La principal propiedad antioxidante de los carotenoides se debe a su habilidad para neutralizar el radical O_2 (Oroian & Escriche, 2015).

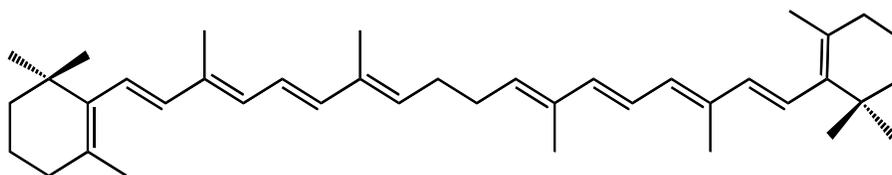


Figura 9. Un antioxidante natural (β-caroteno)

Los compuestos aromáticos generados del metabolismo secundario de las plantas, son los fenoles (Figura 10), los cuales constituyen un grupo de productos naturales numeroso, con aproximadamente 800 diferentes estructuras fenólicas conocidas hasta la fecha. Estos compuestos se clasifican en: ácidos fenólicos, flavonoides, taninos, lignanos, quinonas y

4. MARCO TEÓRICO

otros, de acuerdo al número de anillos fenólicos y de elementos estructurales enlazados a estos anillos (Carocho, 2013).

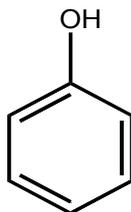


Figura 10. Estructura del fenol

- Ácidos fenólicos. Se dividen en dos categorías de acuerdo a su estructura: derivados de ácido benzoico y derivados del ácido cinámico (Figura 11). Estos compuestos se estructuran por un anillo bencénico unido a un grupo carboxilo (ácido benzoico) o por un ácido propenóico (ácido cinámico). Los principales ácidos hidroxibenzóicos incluyen ácido gálico, ácido p-hidroxibenzóico, ácido vanílico, ácido siríngico, ácido p-cumarico, ácido sinápico. Éstos compuestos presentan actividad antioxidante contra OH^- , O_2^\cdot y ROO^\cdot (Carocho, 2013).

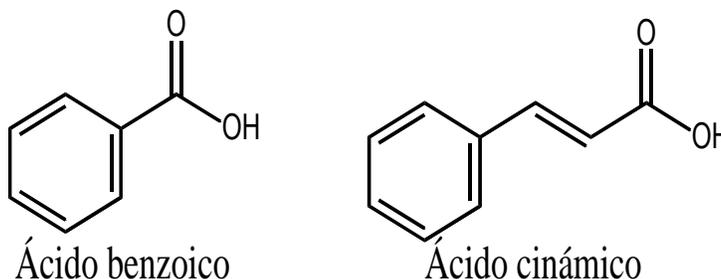


Figura 11. Estructuras de ácidos fenólicos

- Los flavonoides es el grupo más importante de compuestos fenólicos en plantas, y son compuestos de bajo peso molecular normalmente enlazados a azúcares. La estructura común de los flavonoides consiste en dos anillos aromáticos

4. MARCO TEÓRICO

enlazados a través de 3 carbonos que usualmente forman un compuesto heterociclo oxigenado. Los flavonoides se agrupan en antocianinas (Figura 12) y antoxantinas (Meillón, 2010).

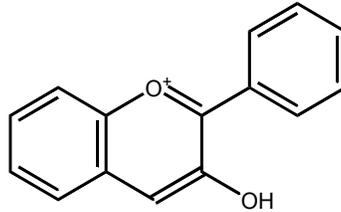


Figura 12. Estructura de un antioxidante flavonoide (antocianina)

- Taninos. De acuerdo a su estructura se clasifican en: taninos hidrolizables (polímeros heterogéneos formados por ácidos fenólicos y azúcares) y taninos condensados (polímeros de antocianina) (Figura 13), son poderosos antioxidantes debido a que presentan gran número de grupos hidroxilos (Carocho, 2013).

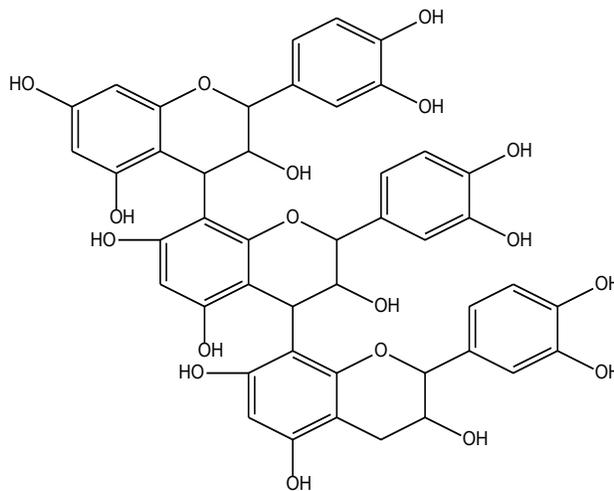


Figura 13. Estructura de un tanino condensado

- Lignanos (Figura 14). Compuestos formados por dos o más unidades de fenilpropanoides, presentes en plantas en forma libre y como glicósidos. Son uno de los dos grupos principales

4. MARCO TEÓRICO

de fitoestrógenos y funcionan como antioxidantes (Carocho, 2013).

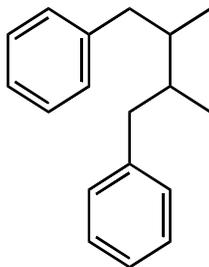


Figura 14. Estructura de un lignano

4.3 TECNOLOGÍAS PARA LA RECUPERACIÓN DE COMPUESTOS DE ALTO VALOR AGREGADO PRESENTES EN LOS RESIDUOS DE ALIMENTOS

Los nuevos métodos de extracción son procesos en los cuales se busca aumentar el rendimiento de los productos de interés, siendo amigables con el medio ambiente al evitar el empleo sustancias contaminantes o procurando su reducción al mínimo (Baiano, 2014). Algunas de las tecnologías emergentes más empleadas hoy en día son: extracción asistida por microondas, extracción por fluidos súper críticos y extracción asistida por ultrasonido (Rombaut, et al., 2014).

o Extracción de fluidos súper críticos

La extracción con fluidos súper críticos es una técnica en la cual generalmente se usa dióxido de carbono como fluido, el cual se somete a condiciones críticas de temperatura y presión (T_c : 31°C, P_c : 7.38 MPa). Por otra parte, el CO_2 cuenta con la ventaja de no ser inflamable, tener un bajo costo, ser abundante y en condiciones de presiones normales es un compuesto muy volátil, esta condición es muy favorable ya que después de despresurizar el extracto este se encontrará libre del fluido (Rozzi & Singh, 2002).

Los inconvenientes que tiene esta técnica es que se requiere una cantidad de tiempo considerable para optimizar los parámetros de la extracción y

la dificultad que implica extraer compuestos que son polares (Galanikis, 2013).

- o **Extracción asistida por microondas**

El uso de microondas para la extracción de componentes biológicos fue reportado por primera vez en 1986 (Ganzier, et al., 1986). Desde esa fecha la tecnología de extracción asistida por microondas fue encontrando diversas aplicaciones como la extracción de aromas, pigmentos, antioxidantes y componentes orgánicos de interés (Morais & Bogel-Lukasik, 2013).

La energía de las radiaciones de microondas es capaz de calentar rápidamente el disolvente y de esta manera acelerar la transferencia del analito de la muestra al disolvente. Esta técnica es de fácil manejo y requiere de una mínima cantidad de disolvente (Oreopoulou & Tizia, 2007).

El desarrollo de las investigaciones en esta tecnología dieron lugar a tres técnicas principalmente: la primera es la extracción con disolvente asistida por microondas (EDAM), la segunda es la extracción libre de disolvente (ELD) y la tercera es la extracción con microondas combinado con gravedad e hidrodifusión (EMGH). Las tres técnicas se representan en la Figura 15 (Rombaut, et al., 2014).

Hoy en día para realizar la extracción de compuestos de alto valor agregado, por lo general se usa la extracción libre de disolvente asistida con microondas, por ejemplo se utiliza en muestras de orégano, cáscara de los cítricos, albahaca y tomillo (Morais & Bogel-Lukasik, 2013).

4. MARCO TEÓRICO

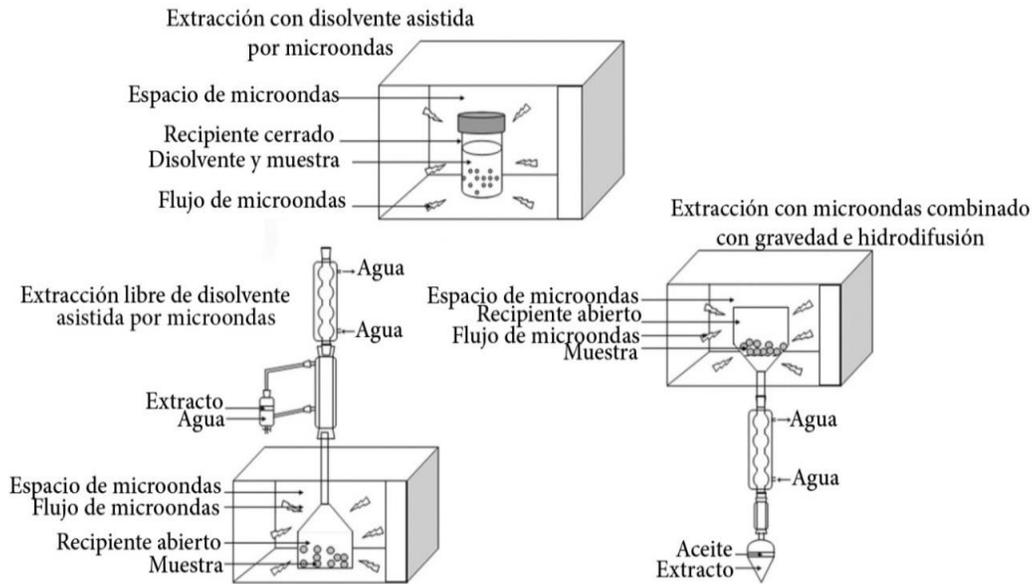


Figura 15. Tipos de extracción por microondas

o **Extracción asistida por ultrasonido**

El ultrasonido está constituido por ondas sónicas que se generan mecánicamente, provocando la deformación de sólidos, líquidos y gases.

La sonoquímica está basada en el ultrasonido de poder, el cual usa un intervalo de frecuencias bajas. El efecto que causa el ultrasonido en el medio de extracción, se le denomina fenómeno de cavitación (Chernat, et al., 2011). Este fenómeno se produce cuando un líquido en movimiento roza la superficie de un sólido, provocando una caída de presión local. Ésto permite alcanzar la presión de vaporización del líquido a la temperatura de trabajo (Catells, 2012), causando la generación rápida de pequeñas burbujas, dado que la presión es menor a la presión de vapor del medio.

Las burbujas formadas viajan a zonas de mayor presión e implosionan bruscamente, produciendo una estela de gas, un calentamiento acelerado y la transferencia de masa. Este fenómeno provocaría la ruptura de la pared celular de muestras vegetales, por mencionar un ejemplo (Zbigniew

4. MARCO TEÓRICO

& Darlus, 2011). Debido a ésto, los componentes que se encuentran en el interior de una célula, se dispersan en el disolvente. (Chernat, et al., 2011).

Al aparato que se utiliza para generar el ultrasonido de poder se le denomina sonicador. En general, en el mercado existen dos tipos de sonicadores, el primero es el sonicador de tina (A) y el segundo de le denomina sonicador de sonda (B), ver Figura 16.

La extracción asistida por ultrasonido, puede efectuarse en cuestión de minutos, con una alta reproducibilidad y un bajo consumo de disolvente. Pero después de este proceso es necesario realizar una filtración de la muestra y el extracto (Morais & Bogel-Lukasik, 2013).

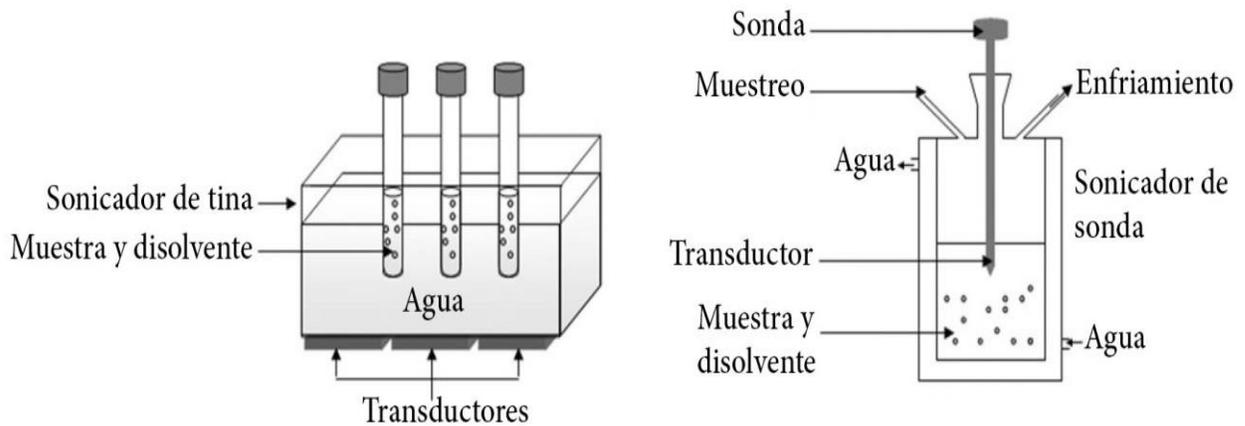


Figura 16. Tipos de sonicadores

La extracción asistida por ultrasonido es un campo que ha demostrado ser una tecnología de extracción verde; los trabajos recientes han intensificado la extracción en medios acuosos, consumiendo baja energía y aumentando la calidad de los extractos cuando se compara con los métodos convencionales como la maceración (Morais & Bogel-Lukasik, 2013).

4.4 TECNOLOGÍAS PARA LA CUANTIFICACIÓN DE POLIFENOLES Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

La capacidad antioxidante de un extracto reside mayoritariamente en una alta presencia de polifenoles, la medición se acota a la caracterización del contenido antioxidante bajo la forma de polifenoles totales. A continuación se presentan las principales metodologías analíticas para la caracterización de compuestos polifenólicos en matrices vegetales (Balasundram, et al., 2006).

4.4.1 Cuantificación de polifenoles

Los compuestos fenólicos y polifenólicos constituyen la principal clase de antioxidantes naturales presentes en plantas y son cuantificados usando distintos métodos. Los detectores más utilizados para la determinación de polifenoles totales son: UV, electroquímico, fluorescencia.

Los métodos espectroscópicos (RMS H⁺, C¹³) son usados como técnicas adicionales para poder corroborar los mecanismos de reacción que pueden seguir los polifenoles (Dorta, 2012).

- **Métodos Cromatográficos**

Entre los métodos que han resultado ser muy útiles están los cromatográficos teniendo más importancia la cromatografía de líquidos de alta resolución HPLC, acoplada a diferentes detectores según las necesidades y condiciones de trabajo. El HPLC acoplado a un detector de UV ha sido ampliamente utilizado para la determinación cuantitativa de diferentes flavonoides y polifenoles. Además de la cromatografía de líquidos (LC), también se emplea la cromatografía en capa fina (CCF) y la cromatografía de gases (CG) acoplada a la espectrometría de masas (Balasundram, et al., 2006).

- **Ensayo de Folín-Ciocalteu**

El contenido de polifenoles totales es determinado a través de un ensayo que emplea el reactivo de Folín-Ciocalteu. Todos los métodos hasta ahora

4. MARCO TEÓRICO

publicados que emplean dicho reactivo miden la capacidad que tienen los polifenoles para reducir (donar un electrón) el Mo(VI) a Mo(V), presente en el complejo molibdotungstato que caracteriza el reactivo de Folín-Ciocalteu. Como resultado de tal reducción, el reactivo de color amarillo, adquiere un intenso color azul, el cual es cuantificado espectrofotométricamente a 725nm. El contenido de polifenoles totales resultante de la aplicación del reactivo de Folín-Ciocalteu es regularmente expresado como mg de equivalentes de ácido gálico, (EAG)/100 g de muestra (Singleton & Rossi, 1965).

El ácido gálico (Figura 17) es un compuesto fenólico simple ampliamente empleado en este ensayo como estándar de comparación. Sin embargo, ocasionalmente se emplea también como estándar de comparación y expresión de resultados, polifenoles como catequina o los ácidos tánico, clorogénico, caféico, vanílico y ferúlico (Fogliano, et al., 2010).

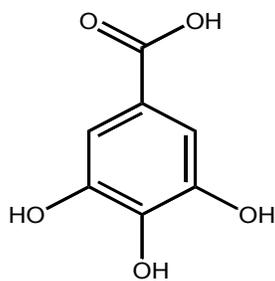


Figura 17. Ácido gálico.

o **Espectrometría de masas**

La espectrometría de masas consiste en la separación de especies químicas iónicas en función de su relación masa/carga (m/z) mediante un campo electromagnético. Esta técnica analítica es excepcional para identificar, cuantificar y elucidar la estructura de compuestos polifenólicos debido a su alta sensibilidad, especificidad, reproducibilidad y buenos límites de detección. Además, combinada con técnicas de cromatografía, hace posible la separación, purificación e identificación de compuestos

4. MARCO TEÓRICO

polifenólicos siendo la técnica más utilizada para caracterizar compuestos en extractos vegetales (Tomás-Barberán, 2005).

Los dos aspectos críticos de la técnica de espectrometría de masas son: el sistema de ionización y el analizador o detector de masas. Tanto la elección de la fuente de ionización como del detector de masa es sumamente importante dependiendo de la naturaleza de la muestra a analizar y del objeto de estudio, ya que cada instrumento presenta diferente resolución, sensibilidad, velocidad de barrido, rango dinámico lineal o precisión, intervalo y exactitud de masas entre otros (Risso, 2007).

La evolución de las técnicas de espectrometría de masas ha facilitado la caracterización de moléculas, puesto que la opción de realizar MS/MS con una alta resolución posibilita la confirmación de compuestos elucidando fragmentos de su estructura con una masa exacta (Serrano, 2009)

4.4.2 Métodos para la evaluación de la actividad antioxidante

En la actualidad existe un gran interés en determinar las propiedades antioxidantes de los residuos de alimentos, en relación a los compuestos que contienen. Los métodos empleados para medir la actividad antioxidante dependen de la especificidad del radical libre usado como reactivo y están limitados a compuestos solubles en un solvente elegido. Los compuestos antioxidantes pueden tener distinta solubilidad dependiendo del solvente; por esta razón presentan distinta reactividad con los radicales libres, reaccionando en diferente porcentaje y con cinética distinta. Dado este hecho, la eficiencia en la extracción de la especie donadora del hidrógeno es un factor importante en la evaluación de la actividad antioxidante (Dorta, 2012).

4. MARCO TEÓRICO

- **Ensayo ORAC (Capacidad de absorción de radicales de oxígeno)**

El ensayo ORAC es un método comúnmente utilizado para medir la actividad antioxidante en medios hidrofílicos como lipofílicos de vegetales. **Los radicales péroxidos generados por la descomposición térmica del 2,2'-azo-bis (2-amidinopropano) dihidrocloruro (APPH)** reaccionan fluorescencia. Mientras que los antioxidantes presentes en la muestra, neutralizan los radicales libres retrasando la pérdida de fluorescencia (Ghiselli, 1995). La fluorescencia se mide durante 120 min hasta que se reduce a menos de un 5% de su valor inicial. Para cada concentración de antioxidante, se cuantifican las diferentes áreas bajo la curva en todas las cinéticas. Se representan los valores del área neta frente a la cantidad de extracto, siendo la pendiente de esta curva el valor ORAC. Usualmente se expresa como equivalentes de trolox (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico), siendo este un análogo hidrosoluble de la vitamina E (Wu, et al 2004).

- **Ensayo del radical DPPH**

El método del radical DPPH (2,2-difenil-1-picrihidracil) es un método ampliamente utilizado para evaluación de la actividad antioxidante total en alimentos y extractos vegetales, ya que es útil para el estudio de la actividad captora de radicales libres, independientemente de cualquier actividad enzimática, además de su rapidez, sencillez y bajo costo. Este método colorimétrico de evaluación de actividad antioxidante se basa en la reducción del radical estable DPPH, el cual tiene una coloración violeta, que se pierde progresivamente a medida que reacciona con los compuestos antioxidantes de la muestra (Figura 14), produciendo un descenso de la absorbancia a 515nm (Cheng, et al., 2006).

No obstante, este método presenta algunos inconvenientes. Uno de ellos es que existen otros compuestos que absorben a la misma longitud de onda que el radical, como pueden ser los carotenoides, por lo que

4. MARCO TEÓRICO

interferirían en los resultados. Por otro lado, las moléculas pequeñas tienen menor impedimento estérico para reaccionar con el radical, por lo que darían mayor actividad antioxidante que las moléculas con mayor peso molecular (Kuskoski, et al., 2005).

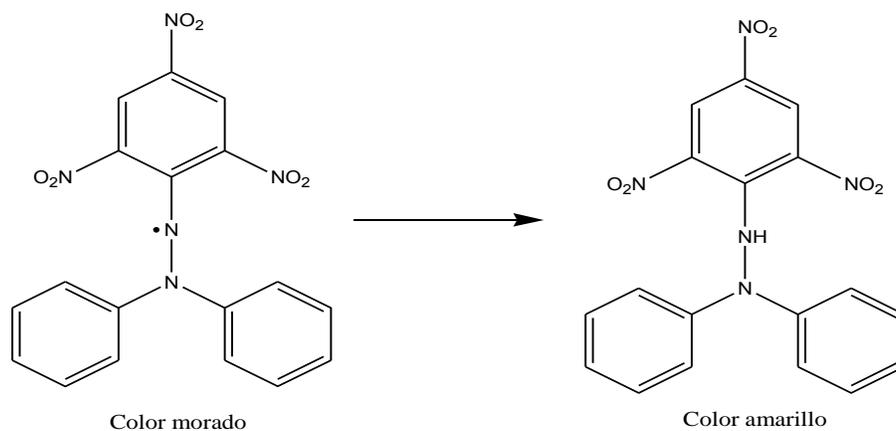


Figura 18. Estructura del reactivo DPPH antes y después de reaccionar

o **Ensayo TRAP (Poder antioxidante de reducción del hierro)**

Este método determina la capacidad del antioxidante para reducir el complejo de la tripiridiltriazina férrica a su forma ferrosa en medio ácido (Benzie, 1996). La reacción produce un cambio de color proporcional a la actividad reductora, que es monitorizado midiendo la absorbancia a 595nm durante 30 minutos para completar la reacción (Pulido, 2003).

Los inconvenientes de esta técnica son que el potencial de reducción del Fe (III) a Fe (II) es de 0,77 V, por lo que un compuesto con menor potencial redox podría reducir al Fe (III). Además existen antioxidantes que son capaces de llevar a cabo esta reacción dando resultados negativos. Asimismo, se han descrito interferencias de otros compuestos (Ou, 2002).

4. MARCO TEÓRICO

- **Ensayo TEAC (Capacidad antioxidante equivalente de trólox)**

El ensayo de TEAC o también conocido como ensayo ABTS (ácido 2,2,azinobis-(3-etilbenzotioazolin-6sulfónico)), está basado en la capacidad del radical catión $ABTS^{\cdot+}$ para reaccionar con los antioxidantes. El radical catión del ABTS generado posee una coloración verde azulada que disminuye debido a la reducción del radical por el antioxidante, es decir, se produce una decoloración que es medida a una longitud de onda de 734 nm. Como patrón se emplea el trólox (Moreno, 2000).

El $ABTS^{\cdot+}$ es soluble en disolventes orgánicos y acuosos, lo que hace que sea un método apto para determinar la capacidad antioxidante tanto lipofílica como hidrofílica de extractos y fluidos biológicos (Prior, 2005).

4.5 ESTABILIDAD OXIDATIVA Y VIDA ÚTIL

La estabilidad oxidativa hace referencia a la resistencia de los lípidos a la oxidación: puede ser expresada como el periodo de tiempo requerido para alcanzar un punto crítico de oxidación. Este parámetro sirve como indicador del comportamiento y vida útil de los lípidos, y depende de la composición del aceite, de las condiciones de procesamiento y almacenamiento, la temperatura, la concentración, la presencia de metales y de antioxidantes, entre otros (Guillén & Cabo, 2002). La determinación de este parámetro es de gran importancia para la industria de alimentos, pues a partir de los resultados obtenidos, es posible optimizar y controlar el proceso de producción para garantizar la obtención de un aceite de elevada calidad (García, et al., 2013).

Existen diversas maneras de realizar un estudio de vida útil, sin embargo los más empleados son los estudios acelerados, en donde es posible predecir, en corto tiempo y bajo condiciones de almacenamiento extremos, la vida de anaquel de un producto en condiciones normales (García, et al., 2008). A fin de acelerar el proceso de deterioro de los

4. MARCO TEÓRICO

alimentos, se emplean condiciones de almacenamiento que normalmente involucran temperaturas elevadas. La suposición principal que se hace en este tipo de estudios es que al almacenar los alimentos a una mayor temperatura se aceleran las reacciones de deterioro y por lo tanto se disminuye el tiempo de vida útil. Así, esta vida útil, en condiciones normales es obtenida por extrapolación de los datos obtenidos en la determinación acelerada (Man, 2002).

En alimentos con un elevado contenido de lípidos, la estabilidad oxidativa es medida a través de la aparición de productos de oxidación, lo cual constituye un índice cuantificable de pérdida de calidad que puede presentar dichos alimentos (Kozak & Samotyja, 2013).

o **Índice de yodo**

El índice de yodo permite evaluar el grado de instauración de un aceite o grasa. El monitoreo de este parámetro permite analizar la pérdida de insaturaciones en los triacilglicerolos durante un período de tiempo determinado, ya que durante la auto oxidación, las dobles ligaduras son atacadas por radicales libres o electrófilos (Pearson, 1999). Entre más alto sea el valor de índice de yodo más sensible será el aceite a la oxidación (Moreno-Álvarez, 2007).

o **Índice de acidez**

Este parámetro es importante ya que es una medida de los ácidos grasos libres, contenidos en una muestra de grasa o aceite. Esta propiedad se ve influenciada por el tipo de materia prima utilizada y el grado de envejecimiento de la misma, aunque también la acidez puede ser generada durante el proceso de producción. Por lo tanto, el valor del índice de acidez es un parámetro que indica el grado de envejecimiento de la muestra durante su almacenamiento, ya que éste valor aumenta

4. MARCO TEÓRICO

gradualmente debido a la degradación de sus componentes (Bertee, 2007).

o **Índice de peróxidos**

Esta prueba establece la cantidad de grupos peróxidos e hidroperóxidos que se encuentran en una muestra de aceite o grasa, ayudando a medir el deterioro de la muestra en la fase de iniciación. Entre más alto sea el valor de este parámetro, más alta será la probabilidad de llegar a la fase de propagación y en consecuencia, a un deterioro oxidativo más alto (Nielsen, 1988).

Se ha establecido en la norma para grasas y aceites comestibles, que el valor de índice de peróxidos sea menor a 15 miliequivalentes de peróxidos en un kilogramo de grasa para un aceite virgen o prensado en frío. En aceites o grasas que contienen algún aditivo, el límite máximo de este índice, deberá ser menor a 10 miliequivalentes de peróxido en un kilogramo de muestra (CODEX, 1981).

o **El índice de Kreis**

Este índice es una prueba rápida que se puede medir por espectrofotometría visible. En esta prueba la floroglucina reacciona en medio ácido con las grasas oxidadas, dando una coloración roja que se puede medir a 540 nm. La intensidad aumenta con el deterioro de la grasa, debido probablemente a la presencia de aldehído malónico o epidrínico, los cuales son productos de deterioro de los lípidos (Aurand, 1987).

4.6 **MANGO ATAUFO (*MANGIFERA INDICA L.*)**

El mango se ha utilizado tradicionalmente para producir néctares, jugos, conservas, mermeladas, jaleas, purés, bebidas, láminas de frutas, etcétera; procesos en los cuales el hueso y la piel (40-50%) son desperdicio. Actualmente se han estudiado alternativas para el uso del

4. MARCO TEÓRICO

hueso y la piel, ya que tiene varios constituyentes de interés como su alto contenido de aceite, minerales, fibra, vitaminas, carbohidratos y proteínas (Jonhson & Cooke, 1991). La piel puede ser utilizada para la extracción de pectinas, enzimas, mientras que la almendra del hueso puede ser utilizada para la extracción de aceites los cuales pueden ser empleados en confitería, y/o en la elaboración de cosméticos (Àlvarez, 2004).

4.6.1 Clasificación y descripción botánica

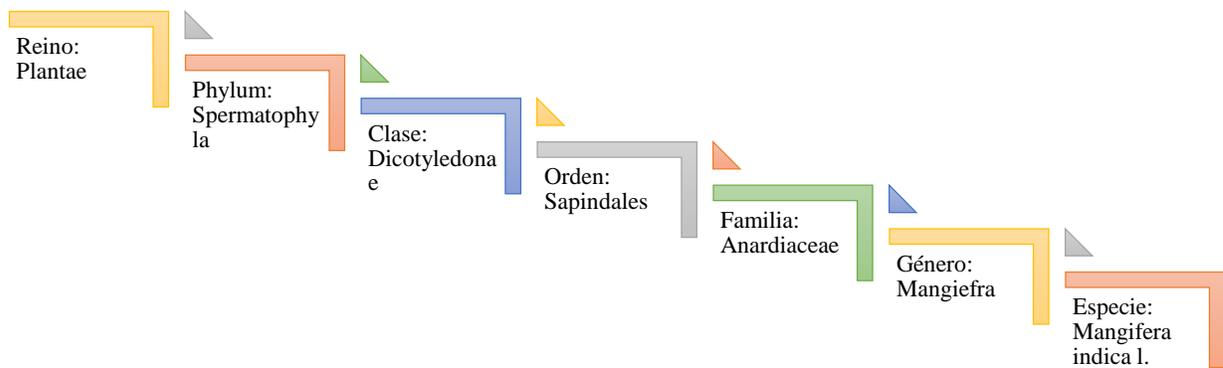


Figura 19. Clasificación botánica del Mango (CABI, 2010)

o Descripción Botánica

El mango ataulfo es el fruto del árbol *Mangifera indica* (Figura 20), el cual, es un árbol frondoso de hasta 20 metros de altura, de copa redonda, siempre verde, con inflorescencia (panícula) provista de numerosas ramas, con entre 550 hasta 4000 flores. Es fruto es una gran drupa carnosa que puede contener uno o más embriones, posee un mesocarpio comestible de diferente grosor según las condiciones del cultivo, su peso varía desde 150 g hasta 2 kg, tiene una forma ovoide-oblonga, notoriamente aplanada, redondeada de 4-25 cm. de largo y 1.5-10 centímetros de grosor. El color puede estar entre verde, amarillo y

4. MARCO TEÓRICO

diferentes tonalidades de rosa, rojo y violeta. La cáscara es gruesa, frecuentemente con lenticelas blancas prominentes. La semilla es ovoide, oblonga, alargada, estando recubierta por un endocarpio grueso y leñoso con una capa fibrosa externa (SAGARPA, 2015).



Figura 20. Mango ataulfo (*Mangifera indica L.*)

Por otra parte, el mango se cultiva principalmente en clima cálido y seco, que se encuentra desde la zona costera del oriente, centro y occidente del país, con una temperatura de 26° a 32° C y una precipitación promedio de 1000 a 1500 mm³ (SAGARPA, 2015).

4.6.2 Origen

El Mango (*Mangifera indica L.*) se cultiva desde hace más de 6,000 años, en la región indobirmana, actualmente se cultiva en casi todos los agroecosistemas tropicales y subtropicales del mundo (Infante, 2011).

Sin embargo el Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial le otorgó la denominación de origen de este fruto al gobierno del estado de Chiapas, ya que éste es cultivado desde 1963 en un predio de Tapachula Chiapas que era propiedad del Sr. Ataulfo Morales Gordillo, de ahí el nombre del mango (SEGOB, 2003).

4.6.3 Producción

De acuerdo con la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), para 2014 la cosecha de mango ascendió a 28.8 millones de toneladas, que represento el 35% de la producción mundial de frutas tropicales.

Por región, el 69% del mango se produce en Asia y China, India, Filipinas, Pakistán y Tailandia, el 14% en América Latina en México y Brasil, mientras que el 9% en el continente africano (Forbes, 2014).

o Producción de Mango en México

El mango es el cuarto producto frutícola más importante (producido) en México después de la naranja, el plátano y el limón. Las principales variedades que México produce son: Kent, Keitt, Tommy Atkins, Haden, Ataulfo, entre otros (SIAP, 2015).

El Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP), señala que este fruto se cosecha en 23 estados de la República Mexicana. Los principales estados productores son (Tabla 1): Guerrero con un 22% de la producción nacional, seguido por Chiapas con un valor del 12%, Nayarit con 11%, Oaxaca con 10%, Michoacán con 8% y por último Sinaloa con el 7% de la producción nacional (SIAP, 2014).

México ocupa el primer lugar a nivel mundial como el mayor exportador de mango ataulfo debido a que lo produce por un período de 8 meses al año. La producción inicia en el estado de Chiapas en el mes de febrero y termina en septiembre en el estado de Sonora. Debido a la calidad de su pulpa, color, piel delgada, semilla pequeña, alto contenido de carbohidratos, aroma y sabor. Esta variedad se encuentra dentro de los cultivos más importantes junto con el Tommy, Atkins, Kent y Keit, según cifras de la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA, 2015).

4. MARCO TEÓRICO

Tabla 1. Principales Estados que producen Mango

Estado	Superficie Sembrada (Ha)	Superficie Cosechada (Ha)	Producción (Ton)	Valor Producción (Miles de Pesos)
Guerrero	24,735	23,943	364,317	1,526,257
Chiapas	27,683	27,300	196,166	847,549
Nayarit	25,491	24,048	175,210	427,193
Oaxaca	17,807	16,755	160,704	351,552
Michoacán	23,642	20,972	137,393	520,201
Sinaloa	31,180	27,562	110,888	222,400

4.6.4 Propiedades Nutricionales y Funcionales del Mango Ataulfo

Desde el punto de vista del valor nutritivo, el mango es una fuente importante de fibra y vitaminas. La pulpa del mango ataulfo presenta una concentración significativa de compuestos como son: vitamina A (esencial para el mantenimiento de los tejidos epiteliales piel y mucosa), así como compuestos de gran actividad antioxidante entre ellos la vitamina C, vitamina E, polifenoles, carotenos, entre otros, además de presentar una importante concentración de minerales como potasio y magnesio, los cuales intervienen en la transmisión nerviosa y muscular. También aporta pequeñas cantidades de hierro, fósforo y calcio. Así mismo, la pulpa del mango contiene fibra soluble (pectinas), ácidos orgánicos (cítrico y málico) y taninos (Engels, et al., 2009).

En su composición destaca igualmente la presencia de una sustancia denominada mangiferina, que en animales de experimentación ejerce una acción antioxidante, inmunomoduladora, antiviral y antitumoral (Sánchez, et al., 2000)

4. MARCO TEÓRICO

De acuerdo a estudios realizados en la pulpa de mango, ésta presenta una mayor actividad antioxidante y una concentración alta de compuestos fenólicos totales comparada con la pulpa de uva, guayaba y piña (Kuskoski, et al., 2005). Así mismo se reportó que el consumo de mango en personas redujo el estrés oxidativo y los niveles de triglicéridos en plasma (Robles-Sanchez, et al., 2009).

Por otra parte, las cáscaras de mango se consideran subproductos. La cáscara compone aproximadamente el 7-24% del peso total, la almendra representa del 45-95% de la semilla y aproximadamente el 20% total del fruto. En la cascara se encuentran compuestos como: pectina, polifenoles y mangiferina, mientras que en el hueso se encuentran ácidos grasos poliinsaturados, compuestos de naturaleza fenólica con actividad antioxidante, antiinflamatoria y antimicrobiana en (Engels, et al., 2009).

Se ha señalado que las cáscaras de diferentes variedades de mango contienen pectina de alta calidad, por su importante concentración en ácido galacturónico y su grado de esterificación (Sudhakar & Maini, 2000) (Schieber, et al., 2004). De igual manera, se ha reportado concentración alta de polifenoles y compuestos antioxidantes en la cáscara de mango. (Schieber, et al., 2003) (Alija, et al., 2007) (Alija, et al., 2008).

Actualmente, la harina de cáscara de mango se utiliza como un ingrediente funcional en muchos productos alimenticios, tales como fideos, pan, bizcochos, galletas y otros productos de panadería. Se han estudiado los efectos de cocción, firmeza y características nutraceuticas y sensoriales de los macarrones adicionados con polvo de cascara de mango. Los resultados sugieren que la incorporación de polvo de cáscara de mango mejora de la calidad nutricional, textura y propiedades sensoriales de los macarrones (Alija, et al., 2008).

4. MARCO TEÓRICO

Así mismo, en la semilla de o hueso del mango se ha encontrado una importante actividad antioxidante, inclusive más alta que en la pulpa misma (Ribeiroa, et al., 2008) (Soong & Barlow, 2004) (Maisuthisakula & Gordon, 2009). Además, por su perfil de lípidos el aceite puede ser empleado en confitería y en la elaboración de cosméticos (Alvarez, 2004).

Los inhibidores de tripsina y actividad antioxidante son propiedades detectadas en las semillas de mango estudiado por (Maisuthisakula & Gordon, 2009).

Existen estudios de los diferentes métodos de secado tanto en la cascara como en la semilla de mango para la obtención de polifenoles, clorofila y actividad antioxidante. En los demostró que con la liofilización permitió la conservación de las semillas sin afectar la actividad antioxidante, sin embargo con el secado al horno mostro efectos negativos disminuyendo la actividad antioxidante. Es así la cascara y semilla de mango, podrían ser ingredientes de alto valor agregado para las industrias, cosmética, farmacéutica o alimentaria (Dorta, 2012).

5 METODOLOGÍA

5.1 MATERIA VEGETAL

Se partió de una muestra residual de semillas de *Mangifera indica L.* (4 kg), obtenida de residuos de la central de abastos ubicada en la ciudad de México entre junio y agosto de 2015.

5.2 EQUIPOS Y REACTIVOS

o Equipos

Balanza analítica marca Scientech modelo SAT 20

Vernier marca Pretul

Lector de microplacas con dispensadores automáticos marca BioTek modelo Synergy 2

Termobalanza marca Sartorius modelo MA35

Sonicador ultrasonic cleaner marca SperScientific modelo 10004

Rotavapor marca Buchi modelo R124

Parrillas

o Reactivos

Hexano

Agua destilada

Acetona

Reactivo de Wijs

Tiosulfato de sodio

Ácido gálico

Butilhidroxitolueno (BHT)

Ácido acético

Carbonato de sodio

Yoduro de potasio

Almidón para yodimetría

Diclorometano

Cloroformo

Hidróxido de potasio

Ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico (Trolox)

Radical 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH)

Aceite de oliva extra virgen

Fenolftaleína

Reactivo de Folin-Ciocalteu

Ácido clorhídrico

5.3 SELECCIÓN, LIMPIEZA Y SECADO DE LAS SEMILLAS

La selección consistió en retirar aquellas semillas que presentaban un daño físico. Posteriormente las semillas seleccionadas se lavaron con agua corriente para retirar cualquier residuo de pulpa y suciedad. Una vez limpias se colocaron sobre papel absorbente y se dejaron secar a la sombra durante 7 días a temperatura ambiente, se les retiró el pericarpio fibroso con ayuda de un cuchillo, obteniéndose tanto la almendra y el pericarpio fibroso por separado. La almendra se colocó nuevamente sobre papel absorbente y se dejaron secar 7 días bajo las mismas condiciones.

5. METODOLOGÍA

5.4 DETERMINACIÓN DE CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DE LAS SEMILLAS

Se tomó una muestra aleatoria de 30 semillas de *Mangifera indica L.*, cada una se pesó en una balanza analítica, se midió su longitud, ancho y grosor empleando un Vernier. Con los datos obtenidos se calculó la desviación estándar y coeficiente de varianza.

5.5 MOLIENDA Y DETERMINACIÓN DE HUMEDAD

Una muestra aleatoria de almendras de mango se sometió a un proceso de molienda en un molino mecánico para obtener harina de esta semilla. Este proceso se llevó a cabo para tres muestras de semillas diferentes. Para cada muestra se determinó la humedad utilizando una termobalanza marca Sartorius modelo MA35.

5.6 EXTRACCIÓN DEL ACEITE DE LAS ALMENDRAS

Se pesaron por triplicado 30 gramos de harina obtenida y se colocaron en un cartucho de papel filtro, para después llevarse a cabo el desengrasado de las muestras por el método de Soxhlet utilizando hexano como disolvente. Este proceso se realizó por 18 horas para efectuar una extracción exhaustiva de los lípidos contenidos en la muestra. Una vez terminado este proceso, se deja evaporar el disolvente residual a temperatura ambiente. El aceite obtenido de cada muestra se concentró en un evaporador rotatorio, recuperando el disolvente empleado. Una vez concentrado se pesó el aceite para determinar su rendimiento.

El porcentaje de rendimiento del aceite obtenido de la almendra se obtuvo mediante una relación entre el peso del extracto y la cantidad de materia utilizada por 100, empleando la siguiente ecuación:

$$\% \text{ rendimiento} = \left(\frac{\text{peso del aceite (g)}}{\text{peso de la materia prima (g)}} \right) (100)$$

5.7 EXTRACCIÓN DE ANTIOXIDANTES DE LAS SEMILLAS DE MANGO

La extracción se llevo a cabo con 2 métodos distintos para realizar un comparativo entre ellos (Vrushali & Virendra, 2014), los métodos empleados fueron: extracción asistida por Sonicación y Soxhlet, utilizando agua como disolvente para ambos métodos.

En la extracción asistida por sonicación, se llevó a cabo a 4 diferentes tiempos (Dorta, et al., 2012), los cuales fueron: 15, 25, 35 y 45 minutos, a una temperatura de 40 °C. Se pesaron por triplicado 0.8 gramos de harina desengrasada y se colocaron en un matraz con 40 mL de agua destilada, la cual se acidificó con ácido clorhídrico concentrado hasta un pH de 3 (Ghafoor, et al., 2009). Terminado el tiempo de extracción, se filtraron los extractos resultantes para aforarlos con agua destilada en un matraz de 50 mL. Este proceso se repitió para cada tiempo empleado.

Para la extracción mediante Soxhlet, se pesaron por triplicado 5 gramos de harina desengrasada y se colocó en un cartucho de papel celulosa, se utilizaron 250 mL de agua como disolvente, y se llevó a pH 3 con ayuda de ácido clorhídrico concentrado. Este proceso se realizó por 5 horas para efectuar una extracción de los compuestos contenidos en la muestra. Una vez terminado este proceso, se deja evaporar el disolvente residual a temperatura ambiente. El extracto obtenido de cada muestra se concentró en un evaporador rotatorio, recuperando el disolvente empleado (Vrushali & Virendra, 2014).

Cada extracto obtenido se colocó en viales color ámbar y se conservaron en refrigeración para evitar la degradación de los antioxidantes.

5.7.1 Cuantificación de polifenoles por el método de Folin-Ciocalteu

Se realizó una dilución a cada extracto obtenido para poder efectuar las respectivas pruebas. Los extractos obtenidos por Soxhlet se diluyeron al 30%, las diluciones que se utilizaron en los extractos obtenidos por

5. METODOLOGÍA

sonicación fueron: 1% para el extracto obtenido a los 15 minutos de sonicación, 1.3% para el extracto obtenido a los 25 minutos, 0.9% y 0.7% para los extractos obtenidos a los 35 minutos y 45 minutos respectivamente.

La cuantificación de compuestos polifenólicos se realizó a través del método colorimétrico de Folin- Ciocalteu (Zhang & otros, 2006) (Siddhuraju, 2007), empleando un lector de microplacas, marca BioTek, modelo Synergy 2, con dispensadores automáticos. Primero se obtuvo una curva patrón de ácido gálico en agua para cuantificar los polifenoles totales, pesando aproximadamente 0.0126 gramos de ácido gálico y aforando con agua destilada en un matraz de 25 mililitros. Posteriormente se realizaron diluciones de esta solución para obtener las siguientes concentraciones: 0.0192, 0.0384, 0.0576, 0.0960, 0.1152, 0.1344, 0.1536, 0.1728, 0.1920, 0.2112 mg/mL de ácido gálico.

En una microplaca de 96 pozos se agregaron 25 μ L de cada disolución preparada para curva patrón de ácido gálico en agua y de los diferentes extractos obtenidos, 30 μ L de carbonato de sodio al 20 por ciento, 125 μ L de agua destilada y 20 μ L de reactivo de Folin-Ciocalteu al 15 %. Cabe mencionar que el agua destilada y el reactivo de Folin-Ciocalteu fueron adicionados automáticamente haciendo uso del sistema de inyección automática del lector de microplacas. Para esta determinación, el blanco que se utilizó fue agua destilada.

Se dejó reposar la reacción en la microplaca por un tiempo de 40 minutos en la oscuridad, transcurrido este tiempo se midió la absorbancia a 725 nm. Cada determinación se realizó por triplicado y el contenido de polifenoles totales se reportó como equivalentes de ácido gálico por gramo de muestra seca.

5. METODOLOGÍA

Para obtener el valor de polifenoles totales se ocupó la cantidad de muestra y absorbancia medida (Tabla 16 y 17, Anexo), como se muestra en el siguiente ejemplo:

Para el extracto obtenido por Soxhlet, se utilizó la ecuación de la curva patrón de ácido gálico en agua: $y = 30.18x + 0.041$ y la absorbancia de la tabla 16, se obtuvo la concentración de ácido gálico. Posteriormente, empleando la cantidad de muestra de 5.13 gramos que se disolvió en agua y se aforó a 250 mL, el factor de dilución del extracto 30 en 100 y el volumen que se colocó de muestra, se realizó el cálculo siguiente:

$$\text{Concentración de polifenoles} = \left(\frac{0.012 \text{ mg EAG}}{1 \text{ mL}}\right) \left(\frac{0.2 \text{ mL}}{0.025 \text{ mL}}\right) \left(\frac{100 \text{ mL}}{30 \text{ mL}}\right) \left(\frac{250 \text{ mL}}{5.13 \text{ g m.seca}}\right) =$$
$$16.38 \frac{\text{mg EAG}}{\text{g de muestra seca}}$$

Una vez obtenidos los resultados para cada extracto se realizó un análisis de la varianza asociada a una variable (ANOVA, por sus siglas en ingles) con un nivel de significancia del 5 por ciento, siendo la variable el disolvente empleado para la extracción. Posteriormente, si en la prueba **anterior se obtuvo un valor calculado de "F" superior al valor crítico de "F"** se concluye que hay diferencia significativa entre las muestras y se realiza un segundo análisis llamado prueba de Tukey. Este análisis consiste en calcular la diferencia entre las muestras para compararlas con un valor llamado diferencia honestamente significativa (DHS). Este valor se calculó usando los grados de incertidumbre del error, la suma de cuadrados del **error y el valor de Q α que se puede obtener de cualquier tabla para prueba de tukey** usando un nivel de significancia del 5 por ciento (UAM, 2012). Si la diferencia es menor al DHS, se considera que las muestras comparadas son similares.

5.7.2 Evaluación de la actividad antioxidante con el reactivo de DPPH

La actividad antioxidantes se determinó a través del ensayo de la capacidad de remoción del radical 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH por sus siglas en inglés) de acuerdo al método de (Brand-Williams, et al., 1995), (Cheng, et al., 2006). Una disolución de DPPH (0.234 mM en acetona al 80 por ciento) fue preparada el mismo día de su uso a partir de una disolución stock de DPPH 31.7 mM. El ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico (Trolox), compuesto hidrosoluble que se utilizó como referencia para esta prueba. Para realizar la curva patrón se partió de un stock de trolox 500 μ M, posteriormente se realizó diferentes diluciones para obtener las siguientes concentraciones: 1.26 μ M, 2.53 μ M, 10.14 μ M, 20.29 μ M, 30.44 μ M, 50.74 μ M, 71.03 μ M. A los diferentes extractos se le realizaron diluciones tomando diferentes alícuotas y aforando a un mililitro con agua destilada. Las alícuotas fueron: 50 μ L, 200 μ L, 400 μ L, 600 μ L, 800 μ L y 1000 μ L.

A cada pozo de una microplaca de 96 pozos se adicionaron 100 μ L de cada una de las concentraciones de trolox y de las diferentes diluciones de los extractos, más 100 μ L de la solución de DPPH 0.234 mM. Para esta técnica se usó como blanco 200 μ L de agua destilada y como control 100 μ L de agua destilada más 100 μ L de reactivo de DPPH.

El dispensador automático del lector de microplacas adicionó los 100 μ L de la solución de DPPH para cada muestra o control. Posteriormente a la adición del reactivo de DPPH, se agitó la microplaca por 30 segundos y se leyó a una absorbancia de 515 nm en intervalos de un minuto, durante un periodo de 30 minutos. Todas las muestras se realizaron por triplicado.

La realización del cálculo de actividad antioxidante expresado como RDSC se obtiene para tener un valor más confiable. Este método efectúa un comparativo entre las muestras con un estándar (trolox), a través de un

5. METODOLOGÍA

modelo matemático de regresión lineal (Cheng, et al., 2006) y se basa en medir el IC50 y ABC50 tanto del trolox como de la muestra, de esta manera, se relacionan ambos valores para determinar la actividad antioxidante. A continuación se muestra un ejemplo con el extracto obtenido por Soxhlet. Primero se determina el EC50 del trolox en agua usando la ecuación de % de DPPH degradado que es $y = 1.65x + 1.93$ y calculando al 50% de degradación (Gráfica 9, Anexo). Éste valor es de 29.02 μM , posteriormente se determina el valor de ABC50 que es el área bajo la curva de la concentración anterior, usando la ecuación $y = 39.17x + 39.16$. El valor calculado fue 1176.34. Este mismo procedimiento se realizó con el extracto obtenido por Soxhlet, obteniendo un valor de EC50 de 0.94 mg/mL y el ABC50 fue de 1047.02. Con estos valores se puede determinar el valor de capacidad de captación de radicales (RDSC).

$$\begin{aligned} \text{RDSC} &= \left(\frac{\text{ABC50 muestra}}{\text{ABC50 trolox}} \right) \left(\frac{\text{IC50 trolox}}{\text{IC50 muestra}} \right) = \left(\frac{1047.02}{1176.34} \right) \left(\frac{29.02 \mu\text{M}}{0.09 \text{ mg/mL}} \right) \\ &= 26.09 \frac{\mu\text{M E. Trolox}}{\text{g de muestra}} \end{aligned}$$

El valor obtenido de actividad antioxidante se reporto como capacidad de captación de radicales libre en μM equivalentes de Trolox por gramo de muestra.

Al igual que en la cuantificación de polifenoles, se llevaron a cabo los análisis estadísticos de ANOVA y prueba de Tukey para observar si existe diferencia significativa entre los tratamientos.

5.8 EVALUACIÓN DE LA ESTABILIDAD OXIDATIVA DE UN ACEITE COMERCIAL EMPLEANDO EXTRACTOS DE ALMENDRA RESIDUAL DE *MANGIFERA INDICA L.*

Una vez efectuados los resultados estadísticos, se eligió el extracto con mayor actividad antioxidante para llevar a cabo las pruebas de estabilidad oxidativa.

5. METODOLOGÍA

A una muestra de aceite de oliva extra-virgen de la marca Valley Foods ® lote L-40197 se le adicionaron 194 ppm del extracto de almendra residual de *M. indica.*, el cual fue disuelto en 3 mL de etanol para su incorporación. Posteriormente se colocó en agitación por 30 minutos y se dejó reposar 24 horas. Se realizó el mismo procedimiento pero usando BHA como antioxidante, se llevo a cabo la adicción del antioxidante usando como referencia la norma (NMX-F-223-SCF1-2011) para no rebasar los límites permitidos para este aditivo (100 ppm de BHA), se usó el mismo criterio para la cantidad adicionada del extracto.

Se emplearon tres grupos de viales de color ámbar, cada grupo contó con 5 viales. Al primer grupo de viales se le adicionaron 22.5 g de aceite sin antioxidante, el cual sirvió como control. Al segundo grupo de viales se le adicionaron 22.5 g de aceite con el extracto estudiado y al tercero se le adicionaron 22.5 g de aceite con BHA.

Todos los viales se colocaron en una incubadora metálica a 50 °C y se efectuaron monitoreos cada 7 días, de índice de yodo, acidez y peróxidos. Lo anterior se realizó por triplicado para cada muestra de aceite, por un intervalo total de tiempo de 28 días.

5.8.1 Índice de acidez

En un matraz para yodo se adicionó un gramo de muestra, 20 mL de etanol y tres gotas de fenolftaleína como indicador, se calentó la mezcla hasta llegar a 50°C, una vez alcanzada esta temperatura se tituló con una solución valorada de hidroxido de potasio 0.0092 N hasta alcanzar una coloración rosa pálido que fuera estable por lo menos por 30 segundos, como lo indica la norma (NMX-F-101-SCF1-2006). Se registró el volumen utilizado de la solución valorada de KOH, y se efectuó una determinación en blanco para estimar el índice de acidez usándose la siguiente ecuación:

$$\text{Índice de acidez} = \frac{(V_1 - V_2)(\text{Normalidad de KOH})(28.2 \text{ mg KOH})}{\text{g de muestra}}$$

Donde V_1 es el volumen de la muestra, V_2 es el volumen de KOH ocupado en el blanco. El índice de acidez se expresa en mg de KOH por gramo de aceite, usando como referencia al ácido oleico, ya que este ácido graso es el que se encuentra en mayor proporción.

5.8.2 Índice de yodo

En un matraz de 250 mL cubierto con papel aluminio se pesaron aproximadamente 0.1 g de muestra, se adicionaron 10 mL de diclorometano y 10 mL de reactivo de Wijs, el matraz se tapó y se dejó reposar 30 minutos en la obscuridad. Pasado este tiempo, se adicionaron 10 mL de yoduro de potasio al 10 por ciento y 100 mL de agua destilada previamente hervida y enfriada. La mezcla anterior se tituló con una solución valorada de tiosulfato de sodio 0.095 N hasta alcanzar una coloración amarillo paja, se le agregó 1 mL de solución de almidón al 1 % como indicador y se continuó la titulación hasta que la solución quedó incolora como se indica en la norma (NMX-F-152-SCF1-2005). Se registró el volumen de tiosulfato de sodio utilizado y para determinar el valor de índice de yodo, se realizó la titulación de un blanco.

La ecuación utilizada para calcular el valor del índice de yodo fue la siguiente:

$$\text{Índice de yodo} = \frac{(V_2 - V_1)(\text{Normalidad del tiosulfato de sodio})(12.69)}{\text{g de muestra}}$$

Donde V_2 es el volumen ocupado en la titulación del blanco, V_1 es el volumen ocupado para la muestra.

5.8.3 Índice de peróxidos

Se pesaron por triplicado 3 gramos de aceite con extracto, aceite con BHT y aceite puro, en un matraz Erlenmeyer de 250 mL, ésta se disolvió en

5. METODOLOGÍA

30 mL de una solución de ácido acético y cloroformo (3:2). Después se adicionaron 0.5 mL de una solución saturada de yoduro de potasio y la solución se dejó en reposo durante un minuto. Posteriormente se agregaron a esta mezcla 30 mL de agua destilada previamente hervida y enfriada. Se tituló la muestra anterior con una solución valorada de tiosulfato de sodio 0.095N usando una solución de almidón al 1% como indicador (Rajkumar & Naragarajan, 2011).

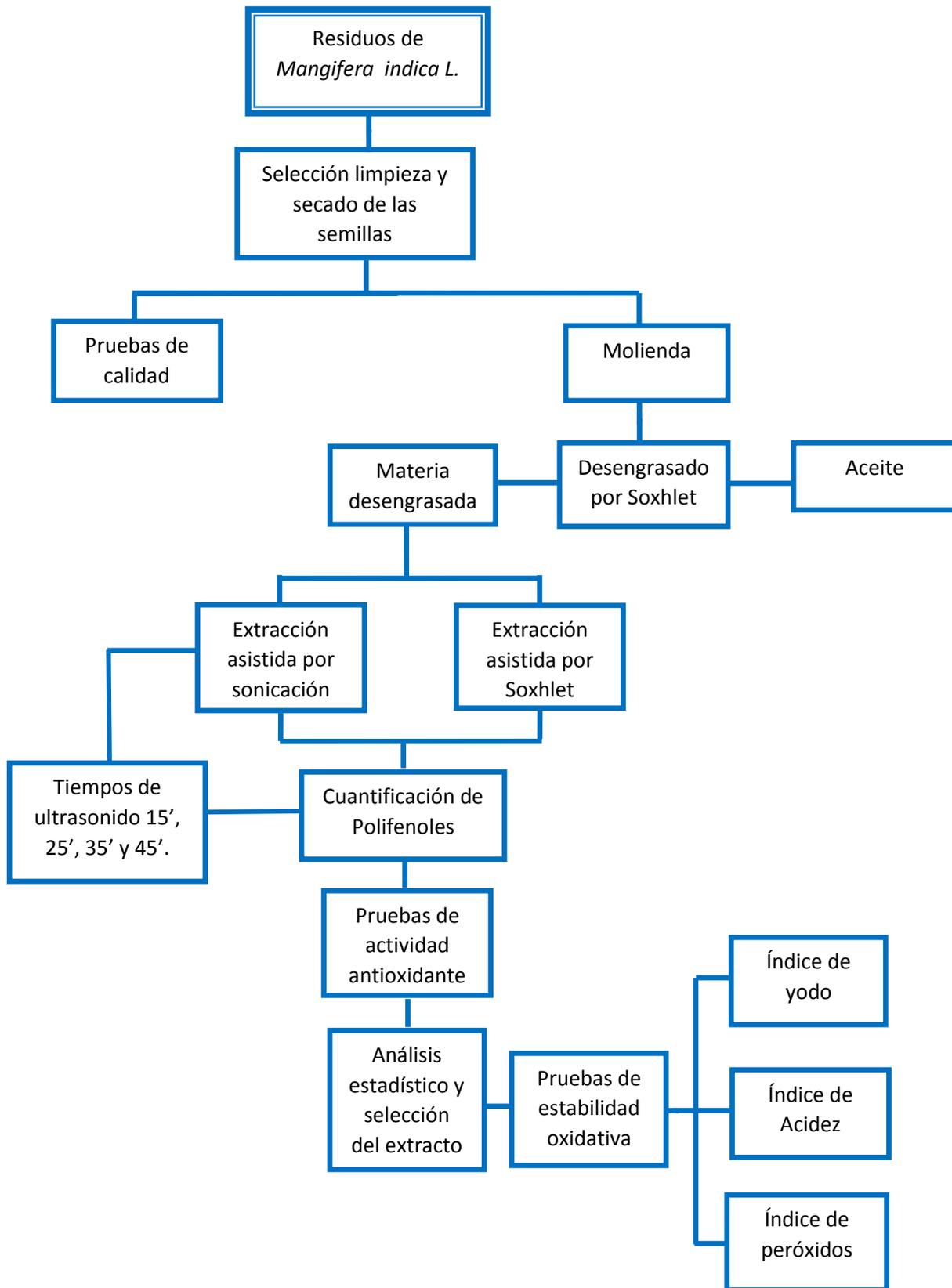
La ecuación utilizada para calcular el valor del índice de peróxidos es la siguiente:

$$\text{Índice de peroxidos} = \frac{(V_1 - V_2)(\text{Normalidad del tiosulfato de sodio})(1000)}{\text{g de muestra}}$$

Donde V_1 es el volumen de tiosulfato de sodio ocupado para la muestra, V_2 es el volumen que se ocupó en el blanco. El resultado se expresa en meq de peróxido/kg de aceite.

Una vez terminadas las pruebas de estabilidad oxidativa durante el tiempo propuesto, se realizaron los análisis estadísticos de ANOVA y la prueba de Tukey para comparar la función como antioxidante en entre el extracto de almendra residual de *Mangifera indica L.* y el antioxidante sintético (BHT).

5.9 DIAGRAMA GENERAL DEL PROCESO



6 RESULTADOS Y ANÁLISIS

6.1 CARACTERIZACIÓN FÍSICA DE LA SEMILLA DE MANGO (*MANGIFERA INDICA L.*)

Las semillas de mango residual mostraron una forma ovoide, alargada, las cuales están recubiertas por un endocarpio grueso y leñoso, con una capa fibrosa externa de una coloración amarillo claro (Figura 21), cuyas dimensiones se muestran en la Tabla 2. El peso promedio de la almendra es de 9.49 ± 3.56 g, representando así el 47.71 % del total de la semilla.

Tabla 2. Caracterización física de la semilla de mango *Mangifera indica L.*

	Peso (g)	Grosor (cm)	Largo (cm)
Semillas *	19.89 ± 0.19	1.69 ± 0.12	8.76 ± 0.97
Almendras*	9.49 ± 3.56	1.35 ± 0.25	5.36 ± 0.80

*Promedio de 30 semillas



Semilla completa



Almendra

Figura 1. Aspecto de las semillas y almendras de *Mangifera indica L.*

6. RESULTADOS Y ANÁLISIS

6.2 DETERMINACIÓN DE LA HUMEDAD Y EXTRACCIÓN DEL ACEITE DE LA SEMILLA DE MANGO RESIDUAL

Se comparó el rendimiento del aceite obtenido en la almendra residual mexicana por la extracción con Soxhlet con el resto de las semillas estudiadas (Tabla 3), observamos que el rendimiento es muy parecido con los valores obtenidos por Solís-Fuentes (2014), ambas son semillas mexicanas y la extracción se realizó por Soxhlet, en cuanto al resto de las semillas para la extracción del aceite se utilizaron fluidos supercríticos utilizando dióxido de carbono, por lo que no se puede comparar ya que las condiciones de extracción son distintas. En cuanto al contenido de humedad en la harina, se obtuvo 7.92%, éste valor va a depender de las condiciones y tiempo de secado, de la semilla y la almendra.

Tabla 3. Contenido total de aceite (g de aceite/100g de base seca) en la semilla de *Mangifera indica L.* de diferentes regiones

Origen de la semilla	g de aceite/100g de base seca	Referencia
Almendra residual mexicana	11.02	
Malasia	7.6 -13.7	(Jahurul, 2014a)
Egipto	12.3	(Abdalla, 2007)
México	11.3	(Solís-Fuentes, 2004)
Tailandia	7.28	(Sonwai, 2012)
Kenia	8.5-10.4	(Muchiri, 2012)

6. RESULTADOS Y ANÁLISIS



Figura 2. Extracción de aceite por el método de Soxhlet en las almendras residuales de mango ataulfo (*Mangifera indica L.*)

6.3 CUANTIFICACIÓN DE POLIFENOLES POR EL MÉTODO DE FOLÍN-CIICALTEU

Las almendras de mango ataulfo contienen cantidades considerables de compuestos químicos con actividad antioxidante notable. Éste trabajo demuestra que la extracción es un paso crítico en la separación compuestos químicos; específicamente, el método de extracción y la temperatura son factores que deben tenerse en cuenta cuando el objetivo es obtener un extracto con alta capacidad antioxidante (Sogi, 2013).

En la extracción asistida por sonicación se realizaron pruebas preliminares con el fin de determinar el mejor tiempo de extracción de compuestos (15, 25, 35 y 45 minutos de ultrasonido) de acuerdo con la metodología planteada anteriormente (Dorta, et al., 2012).

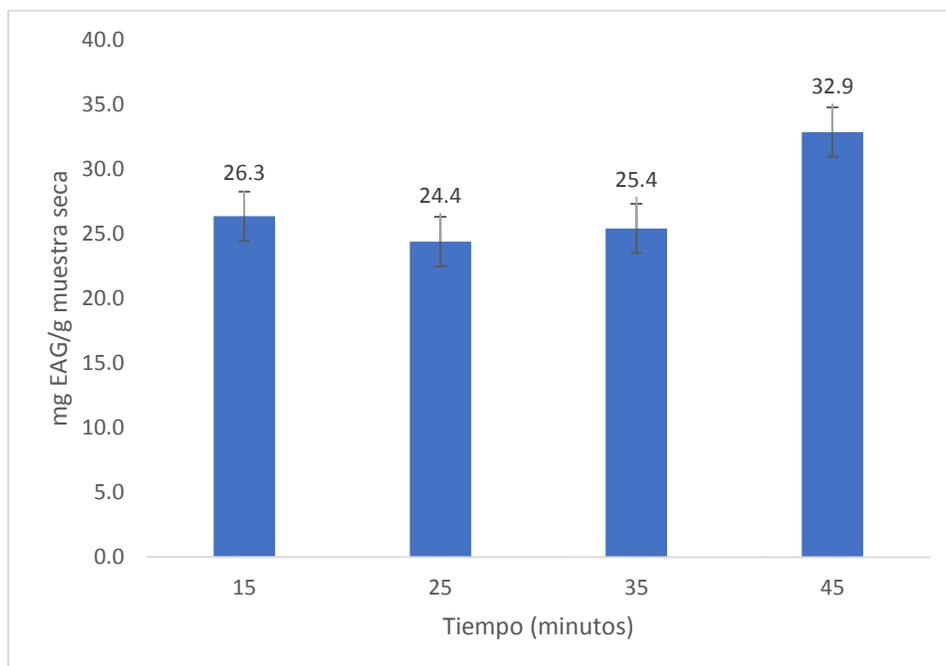
Para determinar el método con mayor eficiencia en la extracción de compuestos se realizó una comparación entre las técnicas de Soxhlet y

6. RESULTADOS Y ANÁLISIS

sonicación utilizando la metodología propuesta por Vrushali & Vivendra (2014) empleando agua como disolvente en ambos casos.

Los polifenoles totales de cada extracto fueron estimados mediante el ensayo de Folín-Ciocalteu y los resultados se muestran en la Grafica 1. En esta grafica se puede observar que extracción asistida con sonicación a 45 minutos presenta la concentración más alta de polifenoles totales (32.9 mg EAG/g), seguido de la extracción a 15 minutos con un valor de 26.3 mg EAG/g.

Por otro lado las concentraciones más bajas de polifenoles totales los obtuvieron las extracciones de 25 y 35 minutos con valores de 25.4 y 24.4 mg EAG/g respectivamente.



Gráfica 1. Polifenoles presentes en los extractos de almendra residual de mango ataulfo, empleando la extracción asistida por ultrasonido. El método empleado fue el de Folín-Ciocalteu (concentración expresada en mg de equivalentes de ácido gálico sobre gramo de muestra seca, mg EAG/g)

6. RESULTADOS Y ANÁLISIS

Tabla 4. Análisis estadístico ANOVA para la prueba de polifenoles totales utilizando la extracción asistida por ultrasonido a diferentes tiempos. Esta prueba estadística se realizó con un nivel de significancia de 0.05%

Tratamiento	Cuenta	Promedio	F	Valor crítico para F
15 minutos	3	26.3	1387.7	4
25 minutos	3	24.3		
35 minutos	3	25.4		
45 minutos	3	32.8		

Tabla 5. Matriz de la prueba de Tukey para la prueba de polifenoles totales. Nivel de significancia de 0.05% y una diferencia honestamente significativa de 0.46

	15 minutos	25 minutos	35 minutos	45 minutos
15 minutos				
25 minutos	1.9			
35 minutos	0.9	1		
45 minutos	6.5	8.4	7.4	

Se realizó un comparativo entre los análisis estadísticos ANOVA y la prueba de Tukey, los cuales se muestran en las tablas 4 y 5. En el análisis de varianza, el valor de F es de 1387.7, el cual es superior al valor crítico, por lo que se puede asumir que la concentración de polifenoles totales en cada extracto es estadísticamente diferente

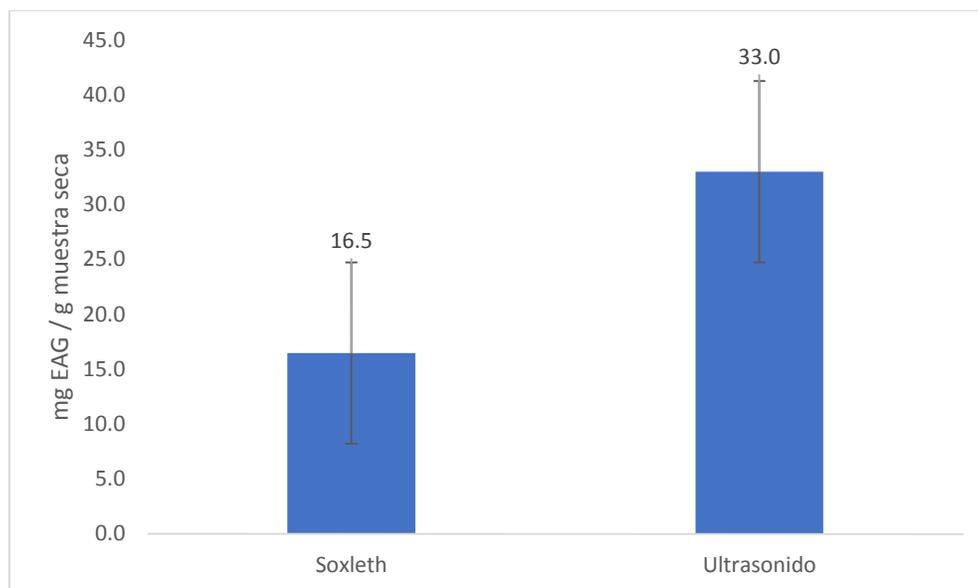
La matriz de Tukey, muestra que los extractos obtenidos a los 15 y 35 minutos no presentan diferencia significativa entre la distancia las

6. RESULTADOS Y ANÁLISIS

medias, por lo que la concentración de polifenoles es la misma en ambos extractos.

Se realizó un comparativo entre el extracto obtenido a los 45 min de sonicación y la extracción con Soxhlet, los resultados se muestran en la gráfica 2, el extracto obtenido por el método de Soxhlet presenta un valor menor (16.5 ± 0.004 mg EAG/ g) en comparación con el obtenido por método de sonicación.

La extracción de polifenoles por el método de sonicación es más eficiente, en comparación a la extracción de polifenoles por el método de Soxhlet.



Gráfica 2. Polifenoles presentes en los extractos de almendra residual de mango ataulfo, empleando la extracción por Soxhlet y sonicación. El método empleado fue el de Folín-Ciocalteu, (concentración expresada en mg de equivalentes de ác. Gálico)

6. RESULTADOS Y ANÁLISIS

Con el propósito de establecer si existe diferencia significativa entre los valores obtenidos de polifenoles totales en cada extracto, se realizó un análisis de ANOVA (Tabla 6).

Tabla 6. Análisis estadístico ANOVA para la prueba de polifenoles totales. Esta prueba estadística se realizó con un nivel de significancia de 0.05%

Tratamiento	Cuenta	Promedio	F	Valor crítico para F
Sonicación	3	32.8	36477.3	7.7
Soxhlet	3	16.4		

El valor calculado de F supera al valor crítico, por lo que estadísticamente las extracciones asistidas por sonicación y Soxhlet tienen concentraciones diferentes de polifenoles.

Resulta complicado comparar los resultados obtenidos en este trabajo con los obtenidos por otros investigadores, debido a las diferentes técnicas de extracción empleadas en cada estudio. Por ejemplo Sultana (2012) reportó que el extracto metanólico al 80% de la semilla de mango contiene 63.89 mg EAG/g. Sin embargo Dorta (2012) utilizó diferentes solventes para la extracción (metanol, acetona, etanol y agua), acidificando el medio a pH 3 con ácido clorhídrico y utilizó cromatografía líquida de alto rendimiento con grado orgánico, para la separación de los compuestos a diferentes temperaturas (25, 50 y 75 °C), dando como resultado un contenido de polifenoles totales en agua a 50 °C de 0.079 EC/g. En el presente trabajo se emplearon los métodos de Soxhlet y sonicación para la extracción de compuestos, el cual se ha establecido que la extracción de compuestos por sonicación es más eficiente que los métodos de extracción convencionales, ya que

6. RESULTADOS Y ANÁLISIS

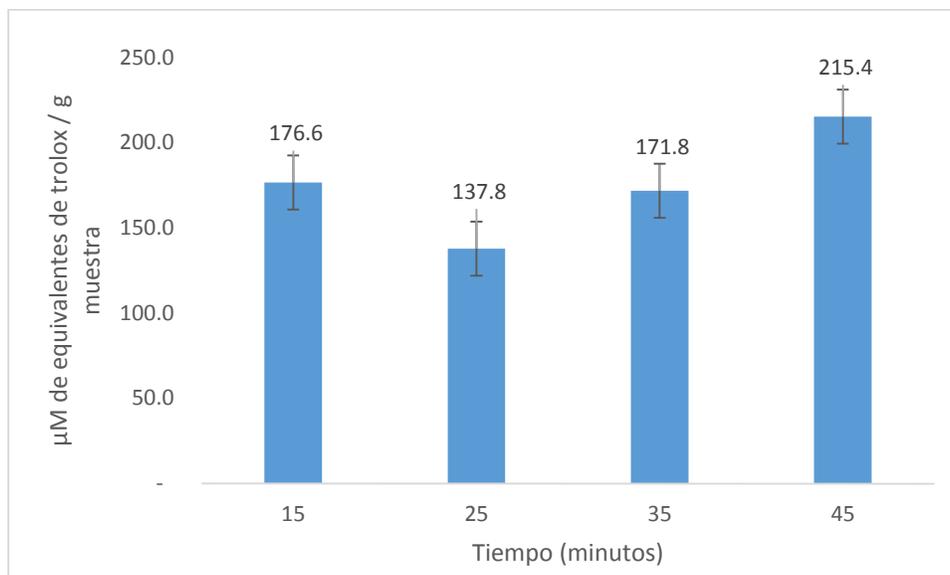
consume menos energía y es más amigable con el medio ambiente (Morais, 2013).

6.4 EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE CON DPPH

La actividad antioxidante de los distintos grupos de compuestos depende de la estructura individual y del número de hidroxilos sustituyentes, así como del peso molecular. En la determinación de la actividad antioxidante de los frutos se debe tener en cuenta las concentraciones globales y composiciones de diversos compuestos fenólicos, al menos los más abundantes. La actividad antioxidante en mango ataulfo se debe a las actividades individuales y combinadas de los compuestos fenólicos (Palafox, et al., 2012). Debido a esto, se llevó a cabo la determinación de la actividad antioxidante en los extractos obtenidos usando el reactivo de DPPH. Esta prueba se efectuó como ensayo de alto rendimiento para evaluar la capacidad de captación de radicales libres (RDSC por sus siglas en inglés) en la almendra residual del mango ataulfo (Cheng, et al., 2006).

Los resultados de la actividad antioxidante en los extractos acuosos obtenidos por sonicación, utilizando como control de referencia el antioxidante sintético Trolox, son expuestos gráficamente a continuación (Grafica 3).

6. RESULTADOS Y ANÁLISIS



Gráfica 3. Actividad antioxidante presente en los extractos de almendra residual de mango ataulfo, empleando la extracción asistida por ultrasonido. El método empleado fue método de inhibición del radical DPPH (concentración expresada en μM de equivalentes de trolox / g de muestra)

Existe una correlación entre las concentraciones de polifenoles y la actividad antioxidante, como es de esperarse el extracto obtenido a los 45 minutos de exposición de ultrasonido presenta una mayor actividad antioxidante con un valor de $215.4 \mu\text{M}$ de equivalentes de trolox / g de muestra, seguido por el extracto obtenido a los 15 minutos de exposición al ultrasonido, extractos que presentaron menor actividad antioxidante fueron los obtenidos a 25 y 35 minutos respectivamente.

A estos valores obtenidos se le aplicó un análisis estadístico ANOVA (Tabla 7) el cual nos indica que el valor de F (969.6) es mayor que el valor crítico de F por lo que estadísticamente existe una diferencia significativa entre la actividad antioxidante.

Tabla 7. Análisis estadístico ANOVA para la prueba de actividad antioxidante utilizando la extracción asistida por ultrasonido a diferentes

6. RESULTADOS Y ANÁLISIS

tiempos. Esta prueba estadística se realizó con un nivel de significancia de 0.05%

Tratamiento	Cuenta	Promedio	F	Valor crítico para F
15 minutos	3	176.6	969.6	4.0
25 minutos	3	137.7		
35 minutos	3	171.8		
45 minutos	3	215.3		

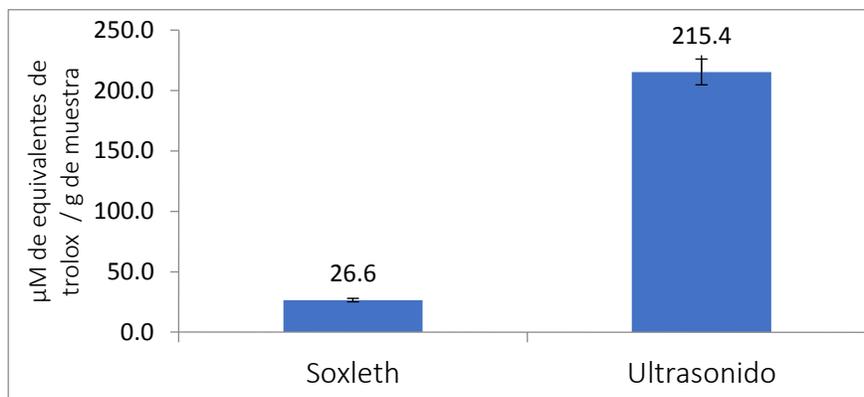
Para complementar este análisis estadístico se efectuó la prueba de Tukey (Tabla 8) un valor de significancia del 5.5, el cual muestra que no existe una diferencia estadística entre los extractos obtenidos en los tiempos 15 y 35, para los extractos restantes presentan una actividad antioxidante diferente, estadísticamente hablando.

Tabla 8. Matriz de la prueba de Tukey para la prueba de actividad antioxidante. Nivel de significancia de 0.05% y una diferencia honestamente significativa del 5.5

	15 minutos	25 minutos	35 minutos	45 minutos
15 minutos				
25 minutos	38.8			
35 minutos	4.8	34		
45 minutos	38.7	77	43.5	

Por otro lado al comparar los valores arrojados por el ensayo del radical DPPH, el extracto obtenido a los 45 minutos de sonicación con el extracto por Soxhlet (Gráfica 2) se muestra que el extracto obtenido mediante sonicación presenta un valor RDSC de $(215.37 \pm 0.01 \mu\text{g ET/g muestra})$, mientras que el extracto obtenido por Soxhlet con un valor de RDSC de $(32.85 \pm 0.003 \mu\text{g ET/g muestra})$.

6. RESULTADOS Y ANÁLISIS



Gráfica 4. Actividad antioxidante presente en los extractos de almendra residual de mango ataulfo, empleando la extracción asistida por ultrasonido. El método empleado fue método de inhibición del radical DPPH (concentración expresada en μM de equivalentes de trolox / g de muestra)

Se realizó un análisis estadístico de ANOVA para saber si estos valores son diferentes a nivel estadístico (Tabla 9). El valor obtenido de F en esta prueba es de 9457, el cual es superior al valor crítico, por lo cual se puede asumir que la actividad antioxidante de los extractos es diferente.

Tabla 9. Análisis estadístico ANOVA para la prueba de actividad antioxidante utilizando DPPH. Esta prueba estadística se realizó con un nivel de significancia de 0.05%

Tratamiento	Cuenta	Promedio	F	Valor crítico para F
Ultrasonido	3	216.5	9457	7.7
Soxhlet	3	26.5		

Al

realizar un comparativo entre ambas técnicas, se demostró que la extracción de compuestos por Soxhlet tiene menor eficiencia, esto se debe a que el agua alcanza un punto de ebullición a los 90 °C, para

6. RESULTADOS Y ANÁLISIS

comenzar el reflujó y extraer los compuestos, pero al elevar la temperatura se degradan los polifenoles y antioxidantes (Vrushali & Virendra, 2014). En cambio, la extracción por ultrasonido mejora la transferencia de masa del sólido al solvente, utilizando como transporte la difusión por la pared celular y la convección en los poros del sólido. Las partículas sólidas y líquidas se encuentran en constante vibración y aceleración, dando como resultado el paso de la fase sólida hacia el solvente (Fuentes, 2013). Por lo anterior, incrementa notablemente la eficiencia de extracción y disminuye el riesgo de degradación térmica cuando se trabaja a una temperatura de 40 °C (Kulkarni & Rathod, 2014).

Al observar las eficiencias de extracción entre los métodos utilizados, se recomienda utilizar sonicación como método de extracción de compuestos fenólicos (Fernández, 2012), (Kulkarni & Rathod, 2014).

Las almendras de mango ataulfo contienen cantidades considerables de compuestos químicos con actividad antioxidante notable. Sin embargo, este trabajo demuestra que la extracción es un paso crítico en la separación de compuestos químicos; específicamente, el método de extracción y la temperatura son los factores que deben tenerse en cuenta cuando el objetivo es obtener el extracto con alta capacidad antioxidante.

En la actualidad no se ha reportado un valor de RDSC para la semilla de mango ataulfo, por lo que no se puede realizar una comparación como tal. Sin embargo Dorta reporta en su investigación que el extracto acuoso de semilla de mango presenta una actividad antioxidante del 2.5 g ET/ g muestra, este valor es muy bajo en comparación con el 215.34 g ET/ g muestra obtenido en el presente trabajo. Las discrepancias entre los valores está relacionado con el método de

6. RESULTADOS Y ANÁLISIS

extracción, el cultivo, el clima, la cosecha, la madurez y la composición del mango ataulfo.

6.5 ESTABILIDAD OXIDATIVA INDUCIDA POR ANTIOXIDANTE

La oxidación en los aceites es el problema más común de los alimentos, ya que además de modificar las propiedades funcionales del aceite, genera la formación de compuestos volátiles que le imparten olores y sabores indeseables, lo que limita su vida de anaquel y con ello el desarrollo, producción, mercadeo y consecuentes pérdidas económicas importantes (Ortega, 2001).

El uso de antioxidantes sintéticos está restringido en varios países, debido a los posibles efectos negativos que pueden generar en la salud humana. Por tal razón, ha surgido un gran interés por la obtención y utilización de antioxidantes naturales debido a que, por ser de origen vegetal, se consideran más seguros (Rizner, et al., 200). En la búsqueda de un antioxidante natural se propuso al extracto con mayor contenido de polifenoles y actividad antioxidante, el cual fue el obtenido a los 45 minutos de sonicación.

Se comparó la efectividad antioxidante del extracto obtenido con un antioxidante sintético (BHT) y un control (aceite de oliva extra virgen).

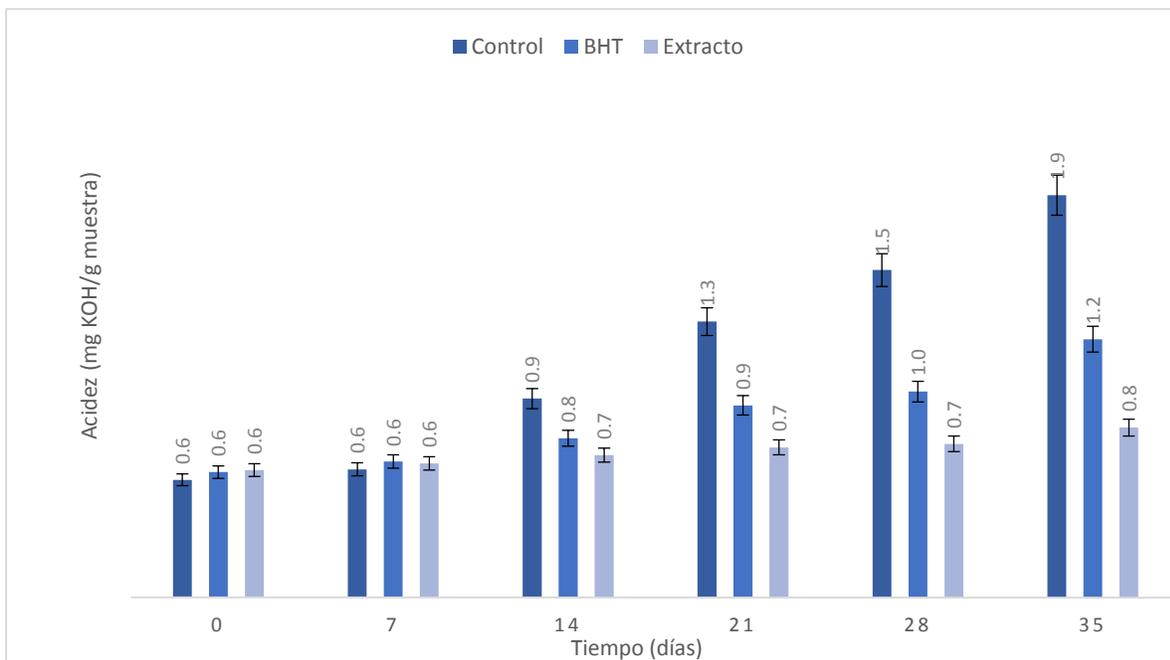
Esta estabilidad oxidativa se monitoreo en un lapso de tiempo de 35 días evaluando los parámetros de calidad del aceite, tales como: índice de peróxidos, índice de yodo y el índice de acidez.

6.6 ÍNDICE DE ACIDEZ

El índice de acidez es una medida intrínseca que indica el estado en el cual se encuentra una grasa o aceite como tal. El aumento en el índice de acidez (Gráfica 5) da como resultado la alteración hidrolítica de los triacilglicérols del aceite por acción de las lipasas.

6. RESULTADOS Y ANÁLISIS

El aumento de acidez se presenta con mayor énfasis para el aceite que se usó como control, en los días 28 y 35 con valores de 1.5 y 1.8 mg KOH/ g muestra respectivamente. Por otro lado la acidez aumento ligeramente en el aceite adicionado con BHT, alcanzando un valor de 1.2 mg KOH/ g muestra en el día 35. La acidez del aceite adicionado con el extracto permanece casi constante durante los 35 días, por lo que se generaron muy pocas reacciones de autooxidación durante el almacenamiento y por lo tanto menor susceptibilidad al deterioro.



Gráfica 5. Índice de acidez de las diferentes muestras a través del tiempo usando como control aceite de oliva extra virgen, aceite de oliva extra virgen adicionado 94 ppm del extracto de semilla de almendra de mango residual y aceite de oliva extra virgen adicionado 94 ppm BHT (Butilhidroxitolueno) a una temperatura de 40 °C

Al realizar el análisis estadístico ANOVA (Tabla 10) y la prueba de Tukey (Tabla 11) para los valores de índice de acidez obtenidos para el día 35,

6. RESULTADOS Y ANÁLISIS

indicaron que existe una diferencia significativa entre el efecto antioxidante de los distintos tratamientos.

Tabla 10. Análisis estadístico de ANOVA para la prueba de acidez en el día 35, con un nivel de significancia del 0.05%.

Tratamientos	Cuenta	Promedio	F	Valor critico F
Control	3	1.9	3182.3	5.1
Extracto	3	1.2		
BHA	3	0.8		

Tabla 11. Matriz de la prueba de Tukey para los datos obtenidos en el ensayo de acidez. Esta prueba de estadística se realizó con un nivel de significancia de 0.05% y una diferencia honestamente significativa de 0.04

	Control	Extracto	BHA
Control			
Extracto	0.6		
BHA	1.1	0.4	

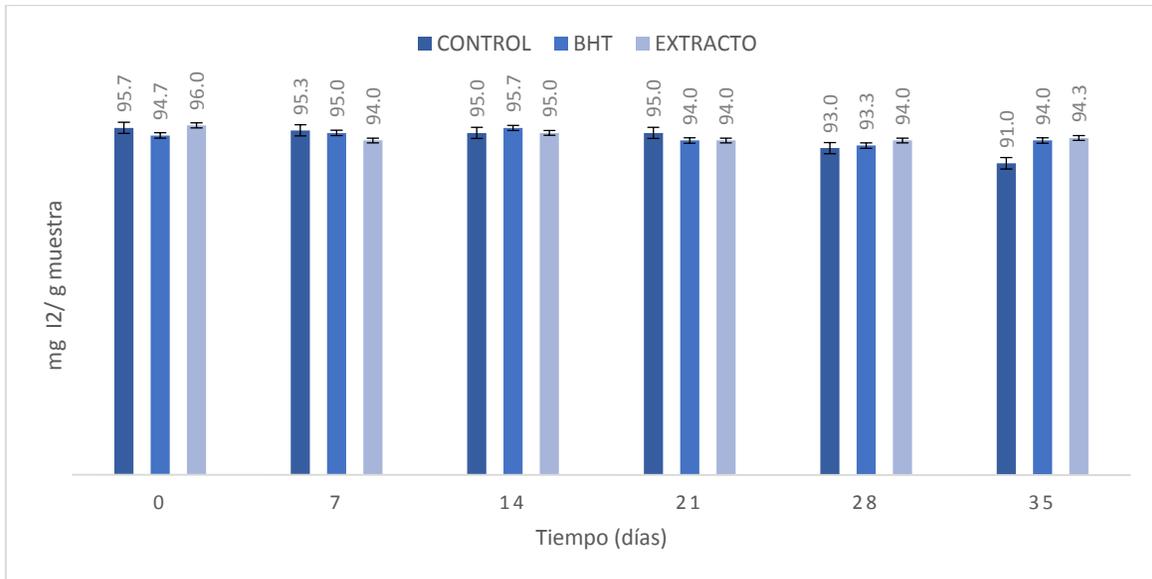
6.7 ÍNDICE DE YODO

El índice de yodo es una medida indirecta de las insaturaciones de los ácidos grasos presentes, este parámetro es útil para determinar la reducción de ácidos grasos durante el curso de la oxidación (NMX-F-152-SCF1-2005).

El presente estudio demuestra que durante el almacenamiento, las muestras de aceite de oliva adicionado con BHT y con extracto de

6. RESULTADOS Y ANÁLISIS

mango ataulfo, presentaron un comportamiento homogéneo con respecto al tiempo (Gráfica 6), lo cual parece indicar que ambos antioxidantes disminuyeron la oxidación en el aceite de oliva. En cuanto a la muestra de control (aceite de oliva extra virgen), tuvo un descenso en el valor de índice de yodo, iniciando con 95.7 mg I₂/g muestra y finalizando con 91.3 Mg I₂/g muestra, después de 35 días.



Gráfica 4. Índice de yodo de las diferentes muestras a través del tiempo usando como control aceite de oliva extra virgen, aceite de oliva extra virgen adicionado con 94 ppm del extracto de semilla de almendra de mango residual y aceite de oliva extra virgen adicionado con 94 ppm BHT (Butilhidroxitolueno) a una temperatura de 40 °C. En el análisis estadístico ANOVA del día 35 (Tabla 12) muestra que el valor de F, es menor al valor crítico, lo que indica que no existe una diferencia significativa entre los tratamientos, al comparar estos valores con la Prueba de Tukey en la tabla 13, indica que estadísticamente los tratamientos están actuando de manera semejante.

6. RESULTADOS Y ANÁLISIS

Tabla 12 Análisis estadístico de ANOVA para la prueba de índice de yodo en el día 35, con un nivel de significancia del 0.05%

Tratamientos	Cuenta	Promedio	F	Valor critico F
Control	3	91.3	0.88	5.14
Extracto	3	94.0		
BHA	3	94.3		

Tabla 13. Matriz de la prueba de Tukey para los datos de índice de yodo. Esta prueba de estadística se realizó con un nivel de significancia de 0.05% y una diferencia honestamente significativa de 7.6

	Control	Extracto	BHA
Control			
Extracto	2.7		
BHA	3	0.3	

6.8 ÍNDICE DE PERÓXIDOS

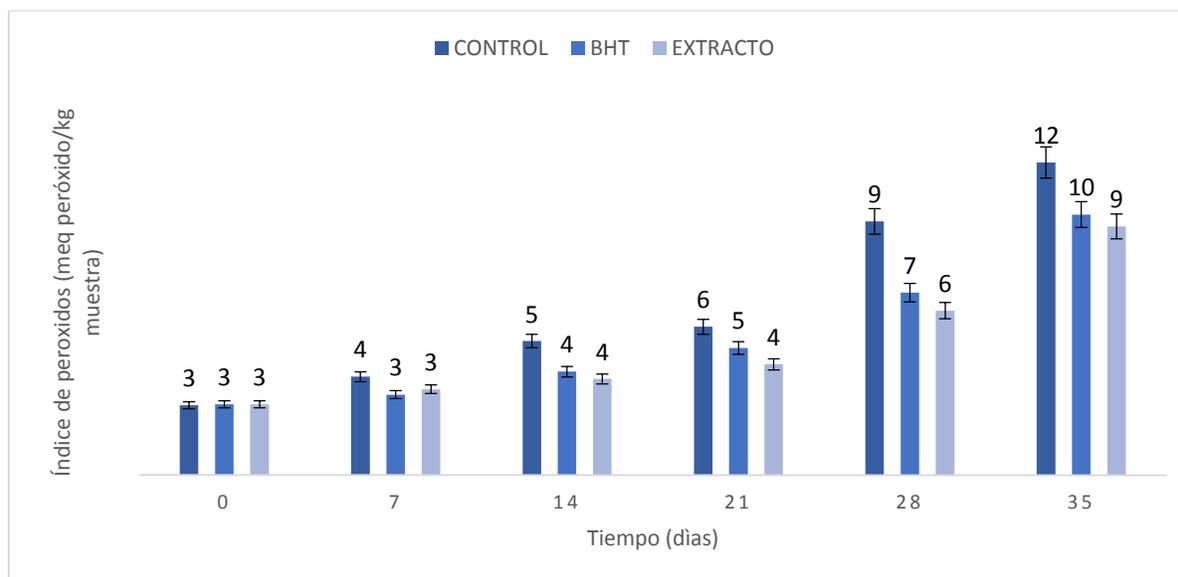
Este es un método colorimétrico indirecto. Los peróxidos se generan durante la etapa de propagación en el proceso de rancidez y aumentan conforme la reacción de oxidación se desarrolla (Bartee, et al., 2007).

El comportamiento del índice de peróxidos, para el aceite que se utilizó como control durante el tiempo almacenamiento tuvo un incremento de 2.6 meq de peróxidos/Kg de muestra al inicio y 11.67 meq de peróxidos/Kg de muestra al final (35 días). La mezcla de aceite con BHT

6. RESULTADOS Y ANÁLISIS

presentó un mayor índice de peróxidos en comparación con la mezcla de aceite con extracto de mango ataulfo (Grafica 7).

Por influencia de la autooxidación se generan radicales, los cuales son iniciadores de una cadena de reacciones que generan más radicales libres, que al entrar en contacto con el oxígeno atmosférico dan lugar a compuestos indicadores de la oxidación primaria (peróxidos). El extracto de mango generó efecto antioxidante ya que se combinó con los radicales libres generados en la etapa de iniciación, interrumpiendo la cadena de propagación de oxidación de lípidos, dando como resultado moléculas menos reactivas.



Gráfica 5. Índice de peróxidos de las diferentes muestras a través del tiempo usando como control aceite de oliva extra virgen, aceite de oliva extra virgen adicionado con 94 ppm del extracto de semilla de almendra de mango residual y aceite de oliva extra virgen adicionado con 94 ppm BHT (Butilhidroxitolueno) a una temperatura de 40 °C

Para comprobar estos resultados se realizó un análisis estadístico ANOVA con un nivel de significancia en las muestras en el día 35, el cual se muestra en la tabla 14, indica que estadísticamente no existe una

6. RESULTADOS Y ANÁLISIS

diferencia significativa entre los aceites utilizados. Por otra parte, al realizar la prueba de Tukey (Tabla 15) nos indica que el aceite adicionado con extracto de mango, está retardando de una manera más efectiva la producción de peróxidos, en comparación con el aceite adicionado con BHT.

Tabla 14. Análisis estadístico de ANOVA para la prueba de índice de peróxidos en el día 35, con un nivel de significancia del 0.05%

Tratamientos	Cuenta	Promedio	F	Valor crítico F
Control	3	6.3	0.4	3.6
Extracto	3	5.1		
BHA	3	4.8		

Tabla 15. Matriz de la prueba de Tukey para los datos de índice de peróxidos. Esta prueba de estadística se realizó con un nivel de significancia de 0.05% y una diferencia honestamente significativa de 0.67

	Control	Extracto	BHA
Control			
Extracto	1.1		
BHA	1.4	0.3	

Analizando los resultados de las pruebas efectuadas para la estabilidad oxidativa (tabla 16), nos muestra que los antioxidantes presentes en el

6. RESULTADOS Y ANÁLISIS

extracto de mango están retardado de manera mas eficiente las reacciones de autoxidación en la etapa de iniciación.

Tabla 16. Resumen de resultados de las pruebas efectuadas para la estabilidad oxidativa

	Índice de Acidez (mg KOH/g muestra)	Índice de Yodo (mg I ₂ / g muestra)	Índice de Peróxidos (meq peróxido/kg muestra)
Aceite de oliva	1.9	91	12
Aceite de oliva con BHT	1.2	94	10
Aceite de oliva con extracto de almendra de mango	0.8	94.3	9

7 CONCLUSIONES

- El problema al que se enfrentan los residuos orgánicos es que no existe una clara conciencia ambiental para su manejo, además de que falta capacidad tecnológica y recursos económicos para darles un destino final, así como una legislación específica para promover la gestión de este tipo de residuos, que asegure un buen manejo desde su generación hasta su disposición final. Aún en nuestros días, esta problemática prevalece a nivel mundial.
- Se demostró que es viable la extracción de compuestos polifenólicos utilizando agua como disolvente.
- Se determinó que la mejor técnica para la extracción de compuestos es la asistida por ultrasonido, en comparación con la técnica de extracción por Soxhlet.
- El extracto obtenido al tiempo 45 de sonicación presento un concentración de 32.85 mg EAG/g de muestra seca en la prueba de polifenoles totales.
- En la evaluación de actividad antioxidantes el extracto obtenido a los 45 minutos de sonicación tuvo la actividad más alta con un valor de 215.37 μ M equivalentes de trolox / g de muestra, en comparación a la otros extractos.
- Al comparar el efecto antioxidante del extracto de almendra de mango con el antioxidante sintético BTH, en las pruebas de estabilidad oxidativa, se demostró que en el índice de acidez é índice de peróxidos, el extracto de almendra de mango retardo el proceso oxidativo un 58% y un 25% respectivamente, en consecuencia el extracto de almendra de mango conservo mejor el aceite de oliva extra virgen.

7. CONCLUSIONES

- o Se decidió publicar los resultados obtenidos en el presente trabajo, ya que es un proceso que utiliza la química verde.

8 BIBLIOGRAFÍA

Abdalla, A., Darwish, S., Ayad, E., El-Hamahmy, R, 2007. Egyptian mango by-product 1: Compositional quality of mango seed kernel. *Food Chemistry*, Volumen 103, pp. 1134-1140.

Alija, C. M., Naidu, K. A., G., Bhata, S. J., Prasada Rao U., 2007. Bioactive compounds and antioxidant potential of mango peel extract. *Food Chemistry*, 3(105), pp. 982-988.

Alija, C. M., Leelavathi, K. & Prasada Rao, U. J., 2008. Improvement of dietary fiber content and antioxidant content and antioxidant properties in soft dough biscuits with the incorporation of mango peel powder.. *Journal of Cereal Science*, 2(48), pp. 319-326.

Álvarez, C. F., 2004. Obtención, caracterización y optimización del proceso de extracción del aceite de la semilla de mango. En: México D.F.: Tesis Licenciatura; UNAM; Facultad de Química.

Álvarez, C. F., 2004. *Obtencion, carcterizacion y optimizacion del proceso de la extraccion del aceite de la semilla de mango*. México D.F.: Tesis de Licenciatura. UNAM. Facultad de Quimica .

Arantes, V., Silva, E. M. & Milagres, A. M. F., 2001. Optimal recovery process conditions for manganese peroxidase obtained by solid-state fermentation of eucalyptus residue using *Lentinula edodes*. *Journal of Biomass and Bioenergy*, 35(9), pp. 4040-4044.

Arriaga, S., Rosas, I., Alatrsite-Mondragon, F. & Razo-Flores, E., 2011. Continuous production of hydrogen from oat Straw hydrolysate in a biotrickling filter. *Journal of Hydrogen Energy*, Issue 36, pp. 3442-3449.

Askar, A., 1998. Importance and characteristics of tropical fruits. *Fruit Processing*, 61(2), pp. 317-325.

8. BIBLIOGRAFÍA

Atabani, E., Silitonga, S., Badruddin, I., Mahlia, T., Masjuki, H., Mekhilef, S., 2012. A comprehensive review on biodiesel as an alternative energy resource and its characteristics. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, Volumen 16, pp. 20170-2093.

Aurand, L., Woods, A., Well, M., 1987. *Food composition and analysis..* New York: An AVI book.

Avelino, A., Avelino, H. T., Roseiro, J. C. & Collaco, M., 1997. Saccharification of tomato pomace for the production of biomass. *Bioresource Technology*, 61(2), pp. 159-162.

Badui, S., 2006. Química de los alimentos. En: D.F. México: Alhambra Mexicana, pp. 259-260, 262-266.

Baiano, A., 2014. Recovery of biomolecules from food waste-a review. *Molecules*, pp. 14821-14842.

Balasundram, N., Sundram, K. & Samman, S., 2006. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, 99(1), pp. 191-203.

Bedoya, A., Castrillón, J., Ramirez, J., Vasquez, J., Zabala, A., 2008. Producción biológica de hidrogeno; una aproximación al estado del arte. *Dyna*, 154(75), pp. 137-157.

Benzie, I. y otros., 1996. The ferric reducing anility of plansma (FRAP) as a measure of "Antioxidant power": the frap assay. *Analytical Biochemistry*, Issue 239, pp. 70-76.

Bertee, S. y otros, 2007. Effects of antioxidants on the oxidative stability of oils containing arachidonic, docosapentaenoic an docosahexaenoic acid. *Journal of American oil chemical society*, pp. 363-368.

8. BIBLIOGRAFÍA

Bertee, S. D., Kim, H. J. & Min, D. B., 2007. Effects of antioxidants on the oxidative stability of oils containing arachidonic, docosapentaenoic and docosahexaenoic acids. *Journal of American oil chemical society*, pp. 363-368.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M. & Berset, C., 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-food science and technology*, pp. 25-30.

Buitron, G. & Carvajal, C., 2010. Biohydrogen production from Tequila vinasses in an anaerobic sequencing batch reactor: Effect of initial substrate concentration, temperature and hydraulic retention time., Volumen 35.

Carocho, M. F. I., 2013. A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives.. *Food and Chemical Toxicology*, Issue 51, pp. 15-25.

Casas, L. & Sandoval, G., 2014. Enzimas en la valorización de residuos agroindustriales. *Revista Digital Universitaria*, pp. 1-15.

Castro, C. y otros, 2011. Structural characterization of bacterial cellulose produced by *Gluconacetobacter swingsii* sp. from Colombian agroindustrial wastes. *Journal of Carbohydrate Polymers*, 84(1), pp. 96-102.

Catells, X. E., 2012. *Nuevas tecnologías para el tratamiento y conversión energética de residuos*. Madrid: Díaz de Santos.

Chang, A. y otros, 2011. Hydrogen production by the anaerobic fermentation from acid hydrolyzed rice straw hydrolysate. *Journal of Hydrogen Energy*, 21(36), pp. 14280-14288.

8. BIBLIOGRAFÍA

Charles, D., 2012. Antioxidant properties of spices, herbs and other sources. *Springer*, pp. 39-64.

Cheng, C., Lo, Y., Lee, K., Lee, D., Lin, C., Chang, J., 2011. Biohydrogen production from lignocellulosic feedstock. *Bioresource Technology*, Volumen 102, pp. 8514-8515.

Cheng, Z., Moore, J. & Yu, L., 2006. High-Throughput relative DPPH radical scavenging capacity assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, pp. 7429-7436.

Cheng, Z., Moore, J. & Yu, L., 2006. High-throughput relative DPPH radical scavenging capacity assay. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, Volumen 54, pp. 7429-7436.

Chernat, F., Huma, J. & Khan, M., 2011. Applications of ultrasound in food technology: processing, preservations and extraction. *Ultrasin sinichem*, pp. 813-835.

CODEX, 1981. Norma del codex para grasas y aceites comestibles no regulados por normas individuales. *CODEX STAN*, pp. 1-5.

Davila, V. G., Alatrsite, M. F., de Leon, R. A. & Razo, F. E., 2008a. Fermentative hydrogen production in batch experiments using lactose, cheese whey and glucose: Influence of initial substrate concentration and pH.. *Journal of Hydrogen Energy*, Issue 33, pp. 4989-4997.

Davila, V. G. y otros, 2009. Continuous biohydrogen production using cheese whey: Improving the hydrogen production ra. *Journal Hydrogen Energy*, Issue 34, pp. 4296-4304.

Dorta, E., Lobo, M., & González, M., 2012. Using drying treatments to stabilise mango peel and seed: Effect on antioxidant activity. LWT. *Food Science and Technology*, 2(45), pp. 261-268.

8. BIBLIOGRAFÍA

Dorta, E., Lobo, M. G. & Monica, G., 2012 . Reutilization of Mango Byproducts: Study of the Effect of Extraction Solvent and Temperature on Their Antioxidant Properties. *Food Chemistry* **71**, pp. 80-88.

Engels, C. y otros, 2009. Antimicrobial activity of gallotannins isolated from mango (*Mangifera indica* L.) kernels. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, **17**(57), pp. 7712-7718.

Espinoza de Aquino, W., Goddard, M., Gutierrez, C. & Bonfil, C., 2015. *Los biocombustibles*. [En línea] Available at: <http://www.comoves.unam.mx/numeros/articulo/123/los-biocombustibles>

[Último acceso: 12 Noviembre 2015].

FAO, 2014. *The Food and Agriculture Organization of the United Nations*. [En línea] Available at: <http://www.fao.org/home/en/>

Fennema, R., 1998. *Química de los alimentos*. 199-223, 227 ed. Zaragoza, España: Acribia S.A..

Fernández, T., Casas, L., Mantell, C. & Rodríguez, M., 2012. Extraction of antioxidant compounds from different varieties of *Mangifera indica* Leaves using green technologies. *The Journal of Supercritical Fluids* **72**, pp. 168-175.

Fogliano, V., Verde, V., Randazzo, G. & Ritieni, A., 2010. Method for measuring antioxidant activity and its application to monitoring the antioxidant capacity of wines. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, Volumen 1035, pp. 1752-1761.

Forbes, 2014. <http://www.forbes.com.mx/mango-un-negocio-jugoso-para-mexico/>. [En línea] [Último acceso: Octubre 2015].

8. BIBLIOGRAFÍA

Furukawa, S. F., 2004. Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *Journal of Clinical Investigation*, pp. 1752-1761.

Galanikis, C. M., 2013. Emerging technologies for the production of nutraceuticals from agricultural by-products: A viewpoint of opportunities and challenge.. *Food and Bioproducts Processing*, 2(4), pp. 575-579.

Ganzier, K., Saigo, A. & Valkó, K., 1986. Microwave extracción. A novel sample preparation method for chromatography. *Journal of chromatography*, pp. 299-306.

García, C. G. L., 2006. Biocarburantes líquidos: Biodiesel y bioetanol. *Informe de Ciencia Tecnológica. CEIM*, pp. 32-91.

García, G. P., López, L. & G. F., 2008. Study of the shelf life of ripe olives using an accelerated test approach. *Journal of Food Engineering*, 84(4), pp. 569-575.

García, M. J., Pérez, G. R., Guadix, A. & Guadix, E. M., 2013. Influence of the parameters of the Rancimat test on the determination of the oxidative stability index of cod liver oil. *Food Science and Technology*, 51(1), pp. 303-308.

Ghafoor, K., Choi Hee, Y., Jeon Yeong, J. & Jo Hee, I., 2009. Optimization of Ultrasound-Assisted Extraction of Phenolic Compounds, Antioxidants, and Anthocyanins from Grape (*Vitis vinifera*) Seeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Issue 57, pp. 4988-4994.

Ghiselli, A. y. o., 1995. A fluorescence-based method for measuring total plasma antioxidant capability. *Free radical biology and medicine*, pp. 29-36.

Giroto, F., Alibardi, L. & Cossu, R., 2015. Food waste generation and industrial uses: A review. *Waste Management*, pp. 1-10.

8. BIBLIOGRAFÍA

GMA, 2012. *Grocery Manufacturers Association. Food Waste: Tier 1 Assessment.* [En línea]

Available at: http://www.foodwastealliance.org/wp-content/uploads/2013/06/FWRA_BSR_Tier1_FINAL.pdf

[Último acceso: 27 11 2015].

Godoy, M. G. y otros, 2009. Use of a low-cost methodology for biodegradation of castor bean waste and lipase production. *Journal of Enzyme and Microbial Technology*, 44(5), pp. 317-322.

Govardhan, R., 2013. Phenolic composition, antioxidant and antimicrobial activities of free and bound phenolic extracts of Moringa oleifera seed flour. *Journal of Functional Foods*.

Güemez, R. F., 2010. Potencialidades del mercado nacional e internacional de la hesperidina de origen natural obtenida de la naranja como sustituto de antioxidantes químicos. *Biociencias y nanociencias*, pp. 1-22.

Guillén, M. D. & Cabo, N., 2002. Fourier transform infrared spectra data versus peroxide and. *Food Chemistry*, 77(4), pp. 503-510.

Hou, L., 2013. *South Korea's food waste solution: you waste, you pay.* *Common Wealth Mag.* [En línea]

Available at:

<http://english.cw.com.tw/article.do?action=show&id=14067>

[Último acceso: 2015 10 25].

Infante, F., Quillantán, F., Rocha, H. y otros, 2011. Mango Ataulfo: Orgullo chiapaneco. *CONABIO, Biodiversitas*, Volumen 95, pp. 1-15.

Jahurul, M., Norulaini, N., Zaidul, I., Sahena, F., y otros, 2014a. Supercritical carbon dioxide extraction and studies of mango seed fat and palm stearin. *CyTA-Journal of food*, 12(1), pp. 97-103.

8. BIBLIOGRAFÍA

Jonhson, G. & Cooke, A. M. A. W. I., 1991. Stem and rot of mango in Australia, causes and control. *Acta de Horticulturae*, Volumen 291, pp. 288-295.

Kaur, V. & Saxena, P. K., 2004. Incorporation of brewevery waste in supplementary feed and its impacts on growth in some carpe. *Journal of Biosersource Technology*, 1(91), pp. 101-104.

Ki Lin, C. y o., 2013. Food waste as a valuable resource for the production of chemical, materials and fuels. Cuerrent situation and global perspective. *Energy and environmental science*, Volumen 6, pp. 426-464.

Kojima, R. & Ishakawa, M., 2013. *Prevention and Recycling of Wastes in Japan: Policies and Achievements*, Japan: Kobe University.

Kozak, W. & Samotyja, U., 2013. The use of oxygen content determination method based on fluorescence quenching for rapeseed oil shelf-life assessment. *Food Control*, 33(1), pp. 162-165.

Kulkarni, V. & Rathod, V., 2014. Mapping of an ultrasonic bath for ultrasound assisted extraction of mangiferin from *Mangifera indica* leaves. *Ultrasonics Sonochemistry* 21, pp. 606-611.

Kuskoski, E. M. y otros, 2005. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Ciencia y Tecnología de alimentos*, 4(25).

Landines, P. M. A.; Zambrano, N. J. A, 2009. La oxidación lipídica en la cadena de producción acuícola. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 2(1), pp. 13-22.

LGEEPA, 2013. *Ley Genral del equilibrio ecológico y la protección al ambiente.*, México: s.n.

8. BIBLIOGRAFÍA

LGPGIR, 2012. *Ley General para la prevencion y Gestion Integral de los Residuos*, México: s.n.

Lin, J. y otros, 2011. Effects of mixture ratio on anaerobic co-digestion with fruit and vegetable waste and food waste of China. *Journal of Environmental Sciences*, 23(8), pp. 1403-1408.

Lopez, M. R. y otros, 2010. Utilisation of cistrus compost-based growing media amended with *Trichoderma harzianum* T-78 in *Cucumis melo* L. seedling production. *Journal of Bioresource Technology*, 101(10), pp. 3718-3723.

Maisuthisakula, P. & Gordon, M. H., 2009. Antioxidant and tyrosinase inhibitory activity of mango seed kernel by product.. *Food Chemistry*, 2(117), pp. 128-130.

Man, D., 2002. Food industry briefing series: Shelf Life. En: *USA: Blackwell Science Ltd.* s.l.: (D. Man, Ed.).

Manios, 2004. The composting potential of different organic solid wastes: experience from the island of Crete. *Journal of Environmental International*, 8(29), pp. 1079-1089.

Marchal, R. y otros, 1992. Large-Scale Enzymatic Hydrolysis of Agricultural Lignocellulosic Biomass. Part 2: Conversion into Acetone-Butanol. *Journal of Bioresource Technology* , Issue 42, pp. 205-217.

Marin, F. R., 2007. By-products from different citrus processes as a source of customized functional fibres. *Food Chemistry*, 100(2), pp. 736-741.

Mateos Martin, M. L., 2013. *Relación estructura/ Actividad de proantocianidinas procedentes de fuentes naturales de origen vegetal*, Barcelona: Facultad de Química. Departamento de Química Analítica.

8. BIBLIOGRAFÍA

Meillón, A. L., 2010. *Evaluación de los compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante de nuevas selecciones de flor de granada (Punica granatum L.) cultivares en el estado de Guanajuato*. Santiago de Querétaro: Universidad Autónoma de Querétaro Facultad de Ciencias Naturales.

Mirabella, N., Castellani, V. & Sala, S., 2014. Current options for the valorization of food manufacturing waste: a review. *Journal of Cleaner Production*, Volumen 65, pp. 28-41.

Morais, A. & B.-L. R., 2013. Green chemistry and the biorefinery concept. *Sustainable chemical processes*, pp. 1-18.

Morais, A. & Bogel-Lukasik, R., 2013. Green chemistry and the biorefinery concept. *Sustainable chemical processes*, pp. 1-18.

Moreno Alvarez, J. M., 1999. Evaluación fisicoquímica de una harina integral proveniente de semillas de mango (*Mangifera indica* L.). *Ciencias Basicas y Tecnológicas*, 11(2), pp. 25-27.

Moreno, S., Jiménez, E., Saura, C., 2000. Study of low-density lipoprotein oxidizability indexes to measure the antioxidant activity of dietary polyphenols. *Nutrition Research*, Issue 20, pp. 941-953.

Moreno-Álvarez, M. J, y otros, 2007. Estabilidad del aceite de soja acondicionados con extractos orgánicos de grapefruit (*Citrus paradisi* Macf). *Revista de la facultad de agronomía*, pp. 709-724.

Muchiri, D., Mahungu, S., Gituanja, S., 2012. Studies on Mango (*Mangifera indica* L.) Kernel fat of some Kenyan varieties in Meru. *Journal of the American Oil Chemistry Society*, Volumen 89, pp. 1567-1275.

Muedas, T. G., Toro, G. A. & Roblez, C. J., 2008. Evaluación electroquímica de la actividad antioxidante del extracto alcohólico de la *Bauhinia*

8. BIBLIOGRAFÍA

guianensis var, kuntiana Aubl. *Sociedad Química Perú*, 74(4), pp. 233-243.

Mussatto, S., Aguilar, C. & Rodriguez, L., 2009. Fructooligosaccharides and B-fructofuranosidase production by *Aspergillus japonicus* immobilized on lignocellulosic materials.. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, Issue 59, pp. 76-81.

Nielsen, I. & Chee, W., 2006. Bioavailability is improved by enzymatic modification of the citrus flavonoid hesperidin in humans: a randomized, double-blind, crossover trial. *The Journal of Nutrition*, pp. 404-408.

Nielsen, S., 1988. *Food analysis second edition*. s.l.:Maryland: An aspen publication..

NMX-F-101-SCF1-2006, 2006. *Alimentos - Aceites y grasas vegetales ó animales- Determinación de ácidos grasos libres*, s.l.: Normas Mexicanas. Dirección General de Normas.

NMX-F-152-SCF1-2005, 2005. *Alimentos para humanos-Aceites y grasas vegetales o animales-Determinación del índice de yodo por el método de ciclohexano-ácido acético*, s.l.: Normas Mexicanas. Dirección General de Normas.

NMX-F-223-SCF1-2011, 2011. *Alimentos - Aceite vegetal comestibles - Especificaciones*, s.l.: Normas Mexicanas. Dirección General de Normas.

Núñez, S., Mathis, G., Plaza, A. & Delgado, A., 2013. Evaluación de cepas fermentativas para la producción de bioetanol a partir de bagazo de caña. *Tecnologías para la bioenergía en México*, pp. 24-43.

Ocampo, S., Betancur, J., Ortiz, A., Ocampo, C., 2007. Estudio cromatografico comparativo de los acidos grasos presentes en la semilla de *Annona cherimolioides* y *Annona muricata* L. *Vector*, Volumen 2, pp. 103-112.

8. BIBLIOGRAFÍA

Oreopoulou, V. & Tizia, C., 2007. *Utilization of plant by-products for the recovery of proteins, dietary fibers, antioxidants, and colorants..* New York: Utilization of by-products and treatment of waste in the food industry.

Oroian, M. & Escriche, I., 2015. Antioxidants: characterization, natural sources, extraction and analysis. *Food research international*.

Ortega, N., Vazquez, M., Robles, B., 2001. Evaluación oxidativa de las mezclas de aceites de leguminosas del Desierto de Sonora con aceites de maíz y soja durante su almacenamiento. *Grasas y aceites*, 52(6), pp. 355-362.

Ou, B., Huang, D., Hampsch-Woodill, M., Flanagan, J., Deemer, E., 2002. Analysis of antioxidant activities of common vegetables employing oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays: a comparative study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Issue 50, pp. 3122-3128.

Palafox, Carlos; E.M, Yahia; Aguilar, G.A, 2012. Identification and quantification of major phenolic compounds from mango (*Mangifera indica*, cv. Ataulfo) fruit by HPLC-DAD-MS/MS-ESI and their individual contribution to the antioxidant activity during ripening. *Food Chemistry* **135**, pp. 105-111.

Parawira, W., Read, J. S., Mattiasson, B. & Björnsson, L., 2008. Energy production from agricultural residues: High methane yields in pilot-scale two-stage anaerobic digestion. *Biomass Bioenergy*, 1(32), pp. 44-50.

Pearson, D., 1999. *Técnicas de laboratorio para el análisis de alimentos*. Zaragoza: Acribia.

Prior, R., Wu, X., Schaich, K., 2005. Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary

8. BIBLIOGRAFÍA

Supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Issue 53, pp. 4290-4302.

Pulido, R. B. L. S.-C. F., 2003. Contribution of beverages to the intake of lipophilic and hydrophilic antioxidants in the Spanish diet European. *Journal of Clinical Nutrition*, Issue 57, pp. 1275-1282.

Rajkumar, G. & Naragarajan, A., 2011. Antioxidant activity of lettuce tree (*Pisonia morindifolia*) and tamarind tree (*Tamarindus indica* L.) and their efficacy in peanut oil stability.. *Food science an biotechnology*, pp. 1669-1677.

Ribeiroa, S. M. y otros, 2008. Phenolic compounds and antioxidant capacity of Brazilian mango (*Mangifera indica* L.) varieties.. *Food Chemistry*, 3(11), pp. 620-626.

Risso, E., Pérez, R., Amaya-Farfan, J., 2007. Determination of phenolic acids in coffe by micellar electrokinetic chromatography. *Food Chemistry*, 105(4), pp. 1578-1582.

Rizner, A., Hadolin, M., Knez, Z. & Bauman, D., 200. Comparison of antioxidative and synergistic effects of rosemary extract with a-tocopherol, ascorbyl palmitate and citric acid in sunflower oil. *Food Chemistry*, Issue 71, pp. 229-233.

Robles-Sanchez, R. y otros, 2009. Effects of minimally processing on bioactive compounds and antioxidant activity of fresh-cut 'Kent' mango (*Mangifera indica* L.) varieties. *Postharvest Biology and Technology*, 3(51), pp. 384-390.

Rombaut, N., Tixer, A., Billy, A. & Chemat, F., 2014. Green extraction precesses of natural products as tools for biorefinery. *Biofuels, bioproducts & biorefinering*, pp. 530-544.

8. BIBLIOGRAFÍA

Rosales, C. L., Razo, F. E., Alatríste, M. F. & de Leon, R. A., 2010. Hydrogen production by *Escherichia coli* hycA lacI using cheese whey as substrate. *Journal of Hydrogen Energy*, Issue 35, pp. 491-499.

Rozzi, N. & Singh, R., 2002. Supercritical fluids and the food industry. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, pp. 33-44.

SAGARPA, 2015. http://www.sagarpa.gob.mx/agronegocios/Documents/Estudios_promercado/Mangos.pdf. [En línea].

Salas, M. P., 2011. Antifungal activity of natural and enzymatically-modified flavonoids isolated from citrus species. *Food Chemistry*, 124(4), pp. 1411-1415.

Sánchez, G. M., Re, L., Giuliani, A. & Nuñez-Selles, A., 2000. Protective effects of *Mangifera indica* L. extract, mangiferin and select antioxidant against TPA- induced biomolecules oxidation and peritoneal macrophage activation in mice. *Pharmacology Research*, pp. 565-573.

Sánchez, M. A. y otros, 2008. Potential of olive mill wastes for soil C sequestration. *Waste Management*, 3(28), pp. 767-773.

Sandoval, C. J., Vergara, M., Carreño, M. & Castillo, E., 2009. Microbiological characterization and specific methanogenic activity of anaerobe sludges used in urban solid waste treatment. *Waste Management*, 2(29), pp. 704-711.

Sang-Hee, J. y o., 2005. Effects of butylated hydroxyanisole on the development and functions of reproductive system in rats. *Toxicology*, pp. 49-62.

Saval, S., 2012. Aprovechamiento de Residuos Agroindustriales: Pasado, Presente y Futuro. *Revista de biotecnología*, 16(2), pp. 14-46.

8. BIBLIOGRAFÍA

Sayed, M., 2013. Antioxidant Properties of High-Lutein Grain-Based Functional Foods in comparison with Ferulic Acid and Lutein. *American Journal of Biomedical Sciences*, Volumen 5, pp. 109-125.

Schieber, A., Berardini, N. & Carle, R., 2003. Identification of flavonol and xanthone glycosides from mango (*Mangifera indica* L. cv. 'Tommy Atkins' peel by high-performance liquid chromatography - electrospray, ionization mass spectrometry. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, Issue 51, pp. 5006-5011.

Schieber, A., Hilt, P., Berardini, N. & Carle, R., 2004. Recovery of pectin and polyphenolics from apple pomace and mango peel. *Total Food*, Issue 5, pp. 144-1449.

SEGOB, 2003. *Diario Oficial de la Federación*. [En línea] Available at: http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=692301&fecha=27/08/2003 [Último acceso: 24 11 2015].

SEMARNAT, 2013. *Diagnóstico básico para la gestión integral de los residuos.*, México: SEMARNAT.

Serrano, J., Puupponen-Pimiä, R., Dauner, A., Ara, A., Saura-Calixto, J., 2009. Tannis: current knowledge of food sources, intake, bioavailability and biological effects. *Molecular Nutrition and Food Research*, 53(SUPPL.2), pp. 310-329.

SIAP, 2014. <http://www.siap.gob.mx/cierre-de-la-produccion-agricola-por-cultivo/>. [En línea] [Último acceso: Octubre 2015].

Siddhuraju, P., 2007. Antioxidant activity of polyphenolic compounds extracted from defatted raw and dry heated (*Tamarindus indica* L.). *LWT-food science and technology*, Issue 40, pp. 982-990.

8. BIBLIOGRAFÍA

Singh, V., Gupta, A., Verna, A., 2013. Review on natural compounds used for antioxidant activity. *Journal of pharmaceutical, biological and chemical*, pp. 936-949.

Singleton, V. & Rossi, J., 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdicphosphotungstic acid reagents. *American journal of enology and viticulture*, pp. 144-157.

Sogi, D. S., Siddiq, M., Greiby, I., Dolan, K. D., 2013. Total phenolics, antioxidant activity and functional properties of Tommy Atkins mango peel and kernel as affected by drying methods. *Food Chemistry*, Volumen 141, pp. 2649-2655.

Solís-Fuentes, J., Durán-de-Bazúa, M., 2004. Mango seed uses: Thermal behaviour of mango seed almond fat and its mixtures with cocoa butter. *Biosource Technology*, Volumen 92, pp. 71-79.

Sonwai, S. K. P. F., 2012. *Blending of mango kernel fat and palm oil mid-fraction to obtain cocoa butter equivalent*. [En línea] Available at: <http://dx.doi.org/10.1007/s13197-012-0808-7>

Soong, Y. Y. & Barlow, P. J., 2004. Antioxidant activity and phenolic content of selected fruit seed.. *Food Chemistry*, 3(88), pp. 411-417.

Sudhakar, D. V. & Maini, S. B., 2000. Isolation and characterization of mango peel pectins.. *Journal of Process Preservation*, Issue 24, pp. 209-227.

Sultana, B., Hussain, Z., Asif, M., Munir, A., 2012. Investigation on the Antioxidant Activity of Leaves, Peels, Stems Bark, and Kernel of Mango (*Mangifera indica* L.). *Journal of Food Science*, 77(8), pp. 849-852.

Thanapimmentha, A., Luadsongkram, A., Titapiwatanakun, B. & Srinophakun, P., 2012. Value added waste of Jatropa curcas residue: Optimization of protease production in solid state fermentation by

8. BIBLIOGRAFÍA

Taguchi DEO methodology. *Journal of Industrial Crops and Products*, 1(37), pp. 1-5.

Thi, N.B.D., Kumar, G., Lin, C.Y, 2015. An overview of food waste management in developing countries: current status and future perspective. *Journal of Environmental Management*, Volumen 157, pp. 220-229.

Timilsina, G., Shrestha, A., 2011. How much hope should we have for biofuels?. *Energy*, Volumen 36, pp. 2055-2069.

Tomás-Barberán, y otros., 2005. HPLC- DAD - ESIMS analysis of phenolic compounds in nectarines, peaches, and plums. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 18(1), pp. 98-112.

UAM, 2012. *Análisis de la varianza*. [En línea] Available at: <http://sgpwe.izt.uam.mx/files/users/uami/jdf/Devore/cap10.pdf> [Último acceso: 6 Diciembre 2015].

UNAM, 2015. *Escuela Nacional de Estudios Superiores. Unidad Leon*. [En línea] Available at: http://enes.unam.mx/?lang=es_MX&cat=medio-ambiente&pl=obtienen-universitarios-nutraceuticos-a-partir-de-residuos-agroindustriales [Último acceso: 17 11 2015].

Valdez, V. I., Acevedo, B. J. & Hernandez, S. C., 2010. Distribution and potential of bioenergy resources from agricultural activities in Mexico.. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 14(7), pp. 2147-2153.

Viveros, I., 2013. *Tesis: Ciclo de vida de los RSOM generados en la central de abastos*.. s.l.:UNAM.

8. BIBLIOGRAFÍA

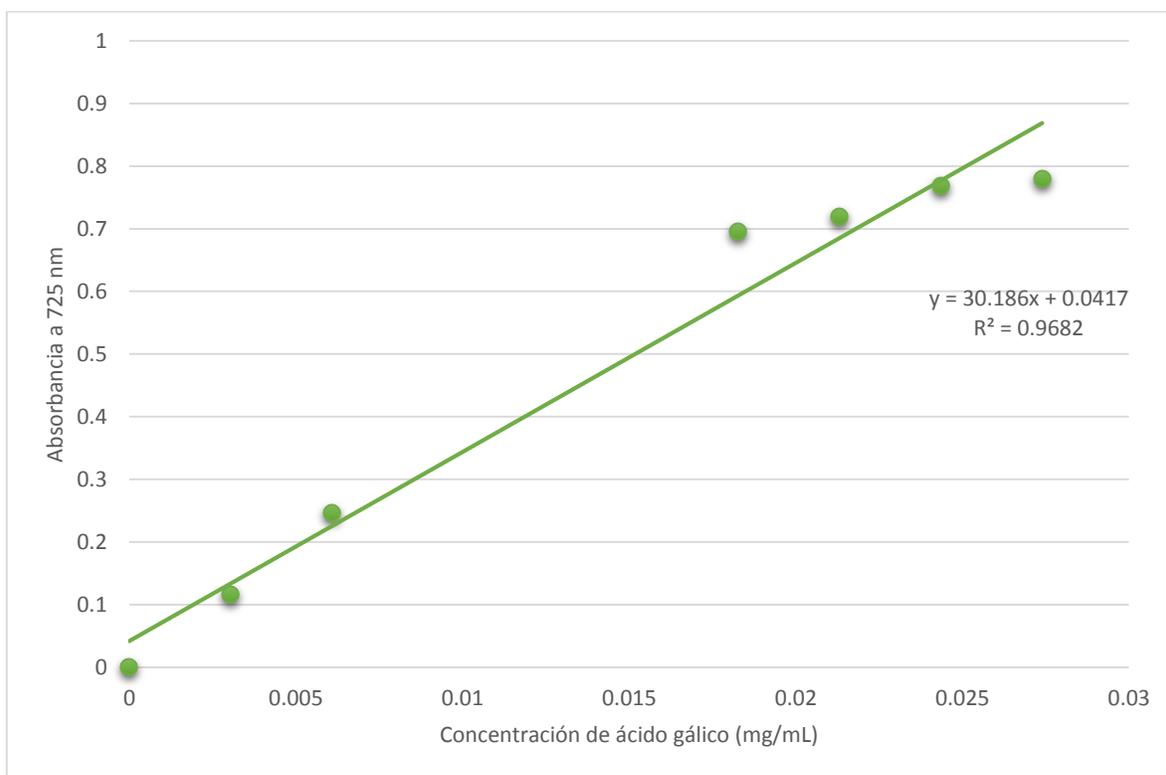
Vrushali, M. K. & Virendra, K. R., 2014. Mapping of an ultrasonic bath for ultrasound assisted extraction of mangiferin from *Mangifera indica* leaves. *Ultrasonics Sonochemistry*, Volumen 21, pp. 606-611.

Yusuf, N. N., Kamarudin, S. K. & Yaakub, Z., 2011. Overview on the current in biodiesel production. *Energy Conversion Management*, Issue 52, pp. 2741-2751.

Zbigniew, J. & Darlus, M., 2011. *Ultrasonically assisted diffusion processes. Enhancing extraction processes in the food industry*. Cambridge: CRC press.

Zhang, Q. & otros, y., 2006. A simple 96-well microplate method for estimation of total polyphenol content in seaweeds. *Journal of Applied Phycology*, Issue 18, pp. 445-450.

9 ANEXO



Gráfica 1. Curva patrón de ácido gálico en agua para la determinación de polifenoles totales por el método de Folín-Ciocalteu

Tabla 17. Cantidad de muestra utilizada para obtener los extractos acuosos por Soxhlet

Muestra	Extracto obtenido por Soxhlet (g)
1	5.0
2	5.0
3	5.0

Tabla 18. Absorbancias obtenidas para cada extracto en la prueba de polifenoles totales

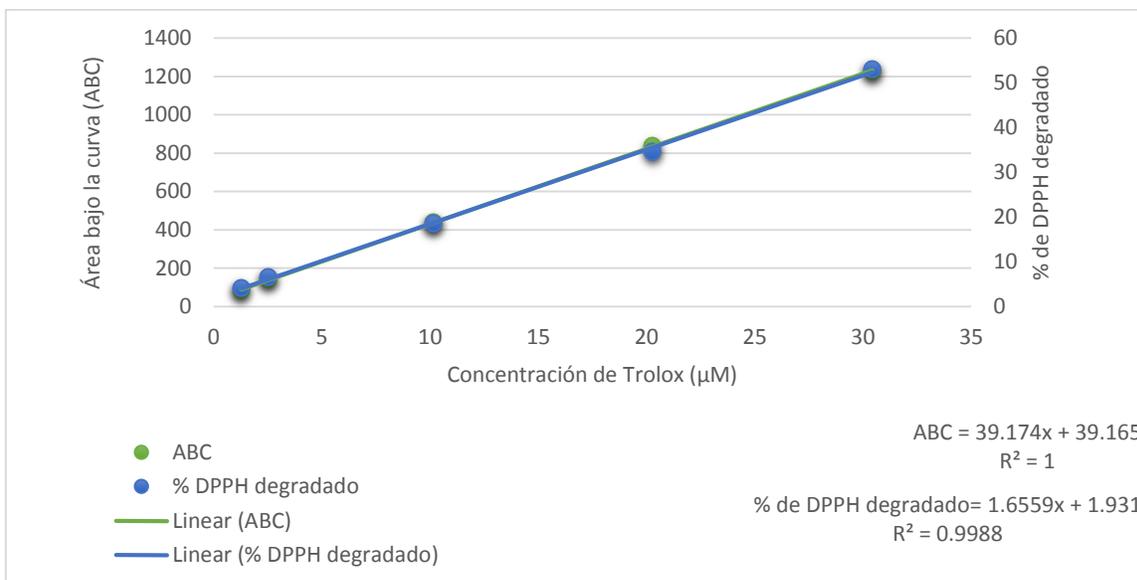
Muestra	Absorbancia del extracto obtenido por Soxhlet
1	16.38
2	16.53
3	16.46

Tabla 19. Cantidad de muestra utilizada para obtener los extractos acuosos por ultrasonido

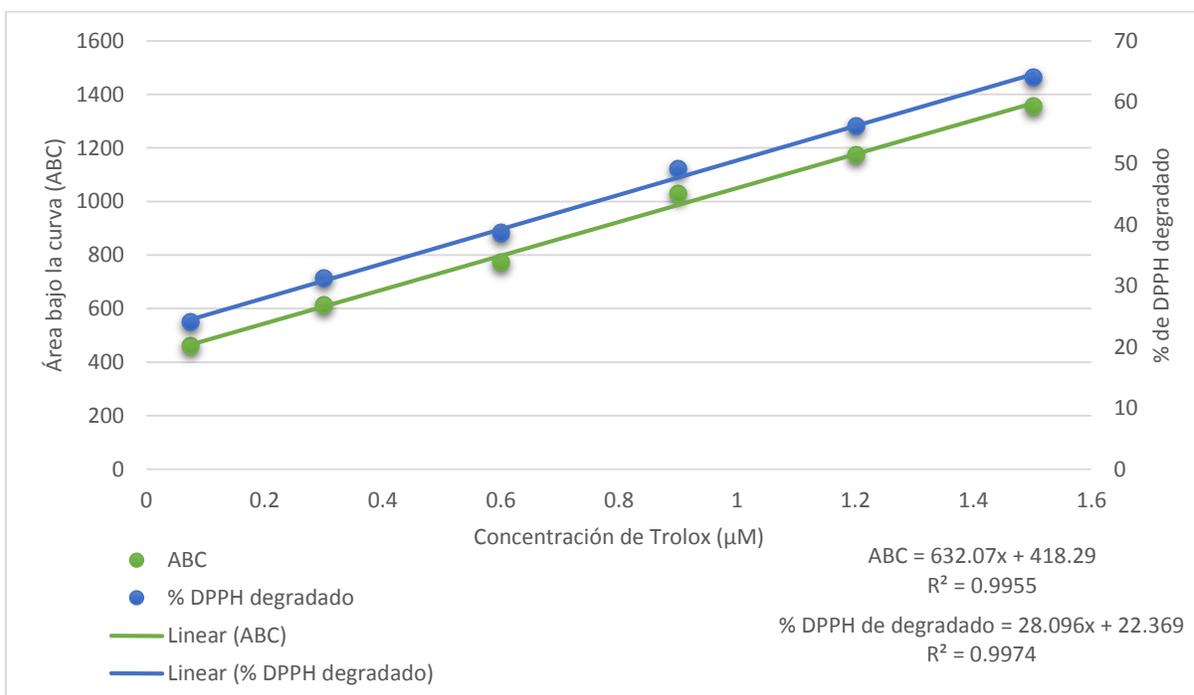
Muestra	15 minutos (g)	25 minutos (g)	35 minutos (g)	45 minutos (g)
1	0.79	0.82	0.80	0.82
2	0.79	0.81	0.81	0.79
3	0.80	0.79	0.80	0.80

Tabla 20. Absorbancia de cada extracto utilizando la extracción asistida por ultrasonido en la prueba de polifenoles totales

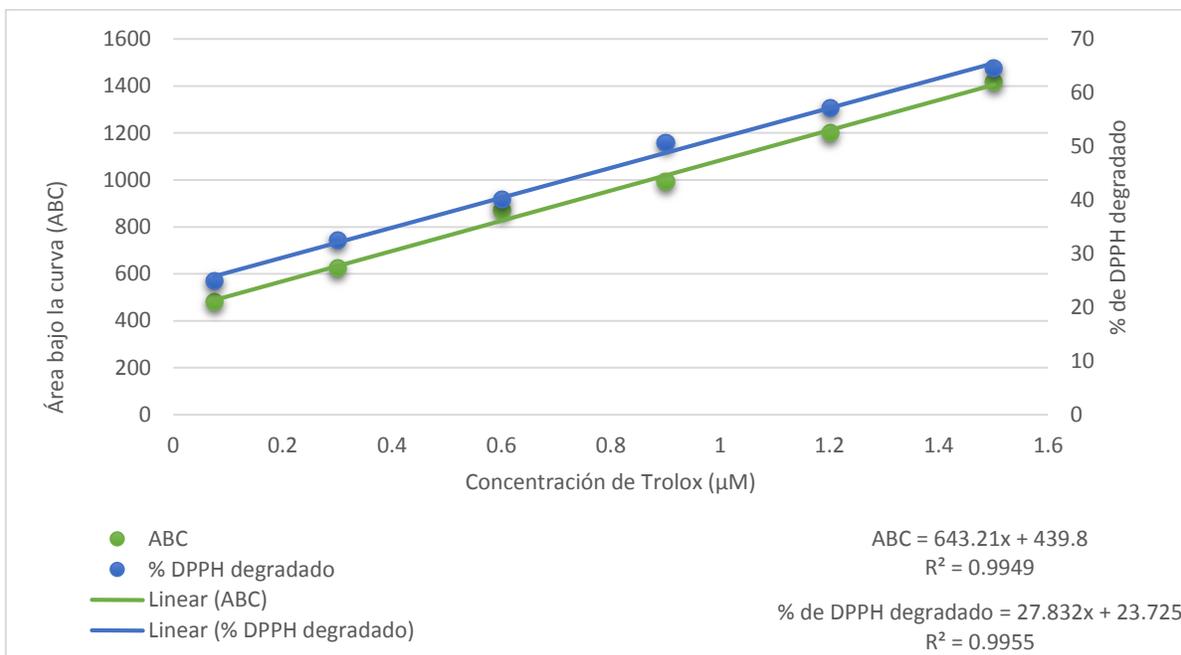
Muestra	15 minutos	25 minutos	35 minutos	45 minutos
1	26.38	24.18	25.72	32.72
2	26.31	24.49	25.21	32.85
3	26.35	24.47	25.28	32.98



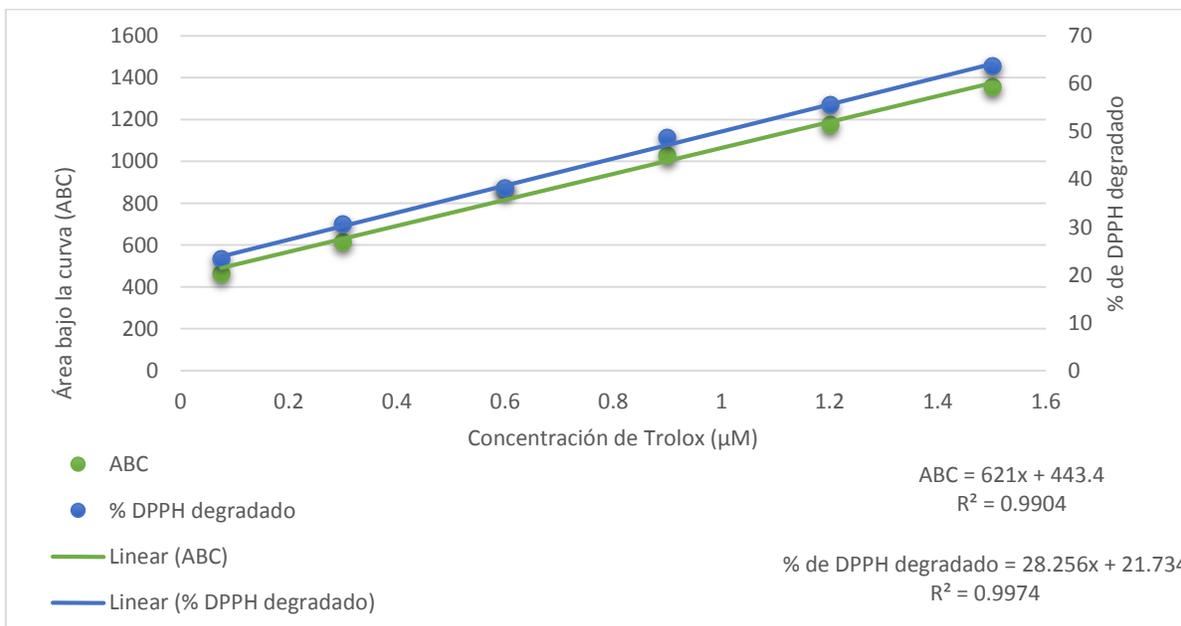
Gráfica 2. Prueba de actividad antioxidante usando trolox en agua



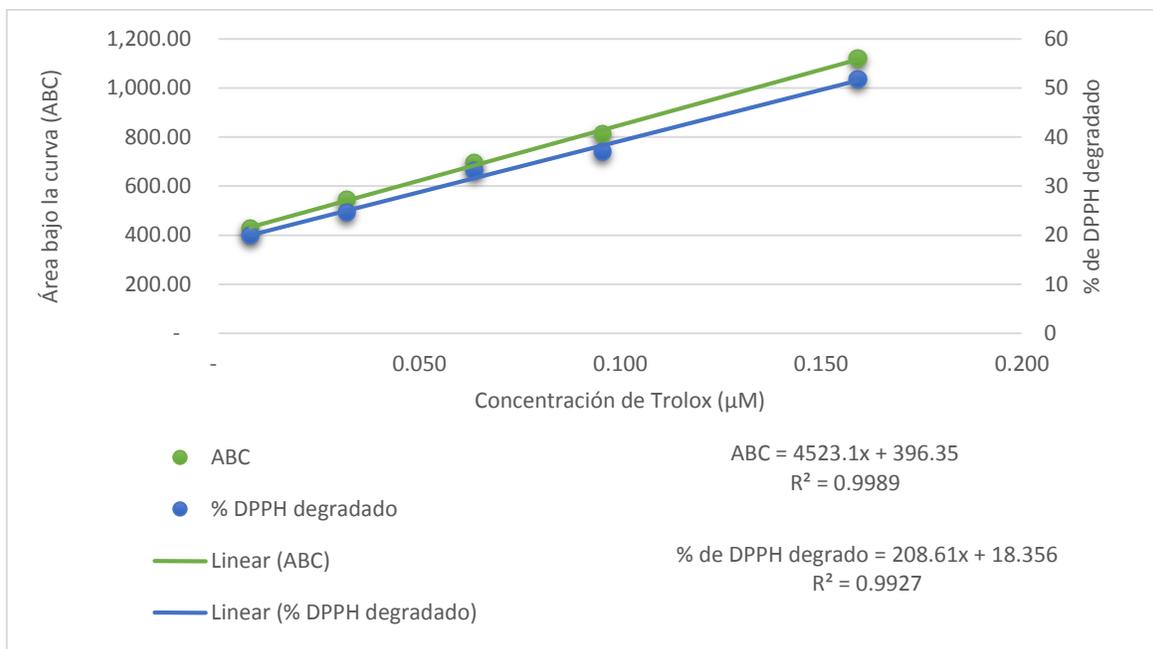
Gráfica 3. Prueba de actividad antioxidante, extracción asistida Soxhlet utilizando la muestra 1



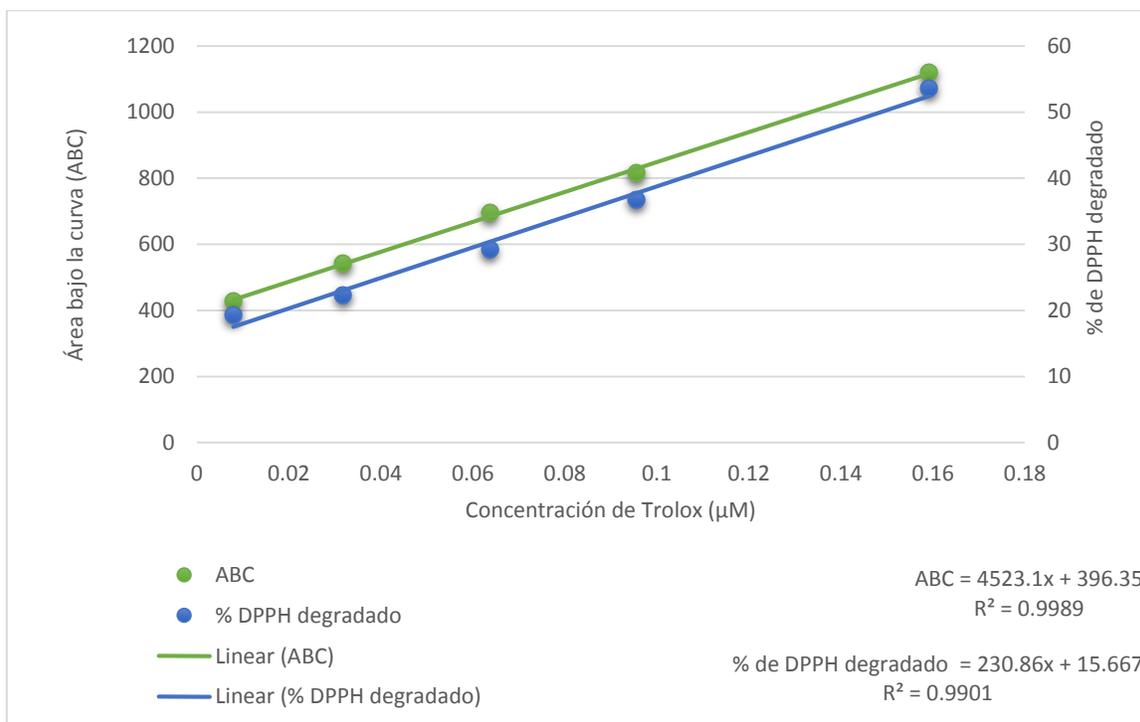
Gráfica 4. Prueba de actividad antioxidante, extracción asistida Soxhlet utilizando la muestra 2



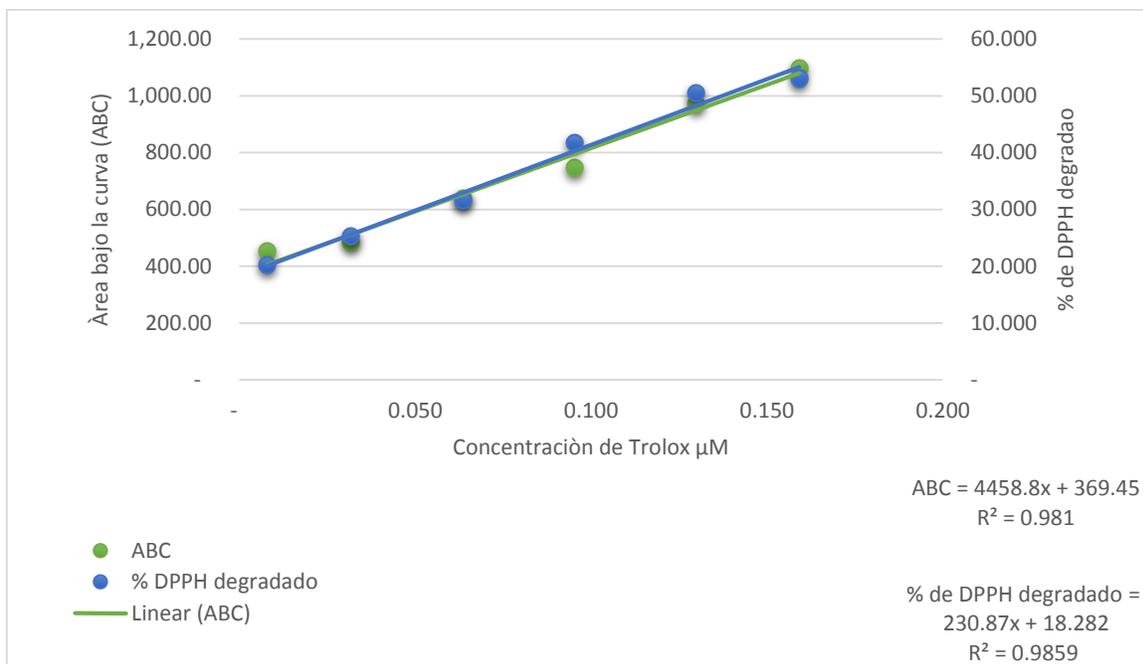
Gráfica 5. Prueba de actividad antioxidante, extracción asistida Soxhlet utilizando la muestra 3



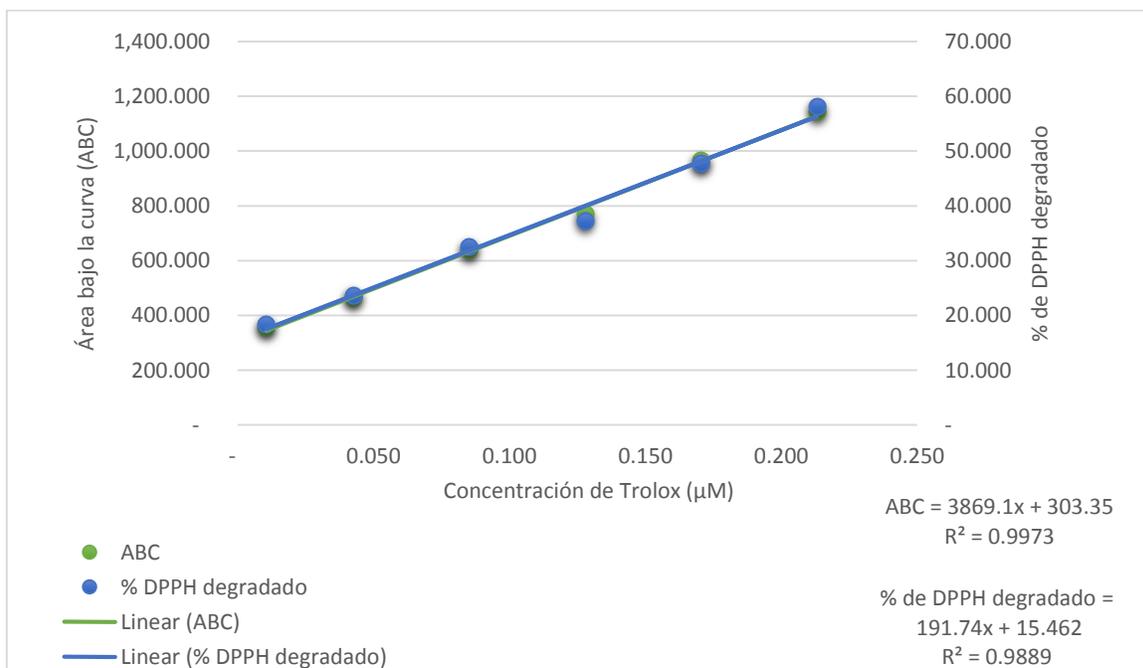
Gráfica 6. Prueba de actividad antioxidante, extracción asistida por 15 minutos de ultrasonido, utilizando la muestra 1



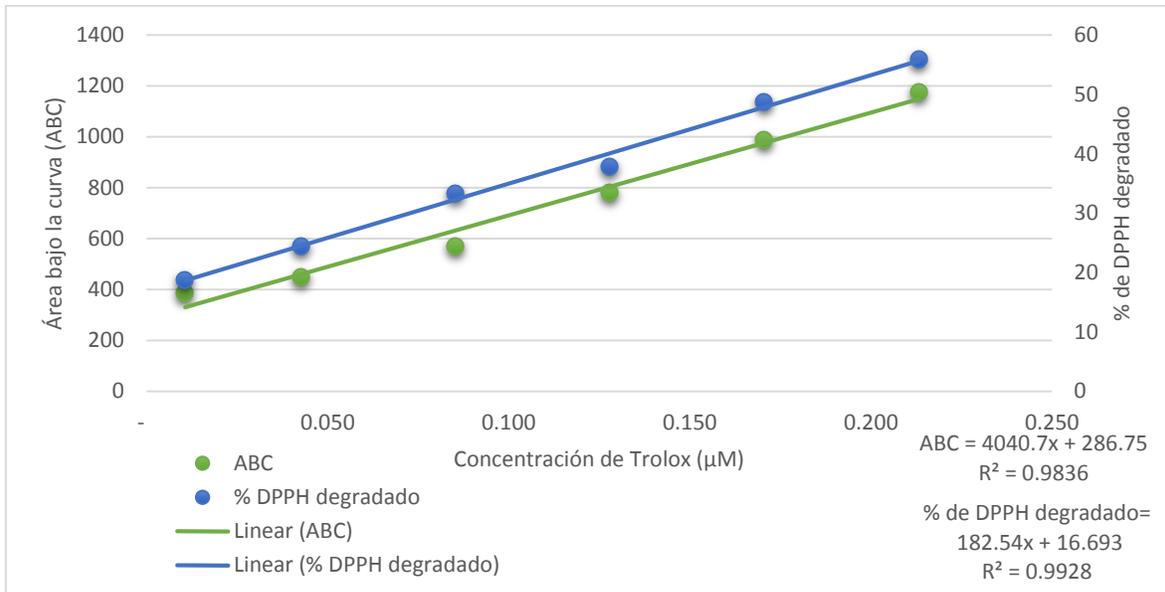
Gráfica 7. Prueba de actividad antioxidante, extracción asistida por 15 minutos de ultrasonido, utilizando la muestra 2



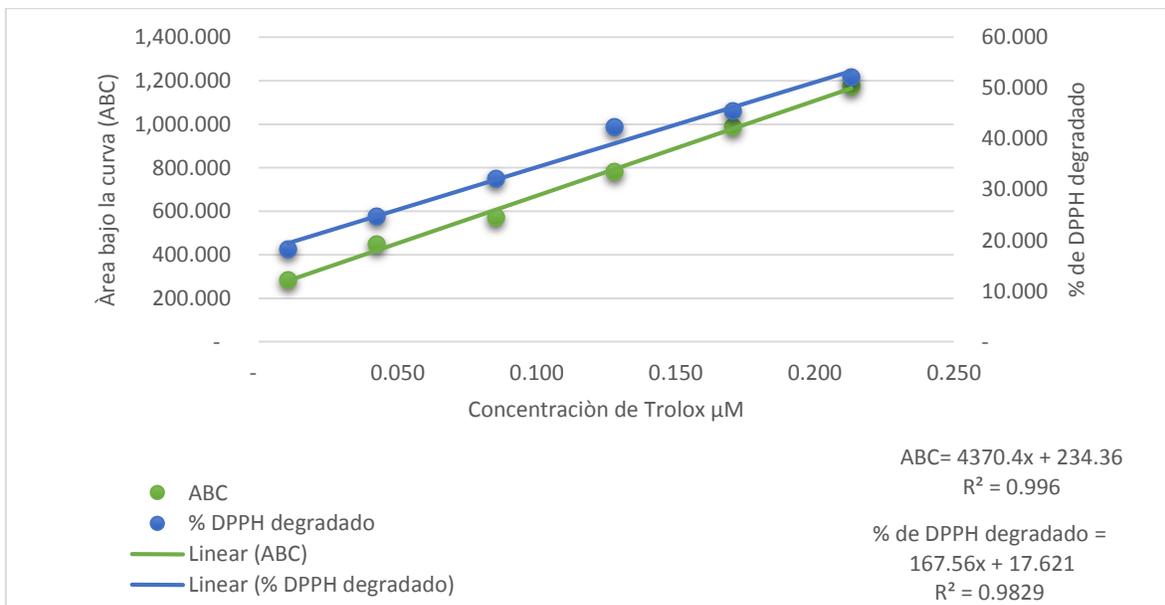
Gráfica 8. Prueba de actividad antioxidante, extracción asistida por 15 minutos de ultrasonido, utilizando la muestra 3



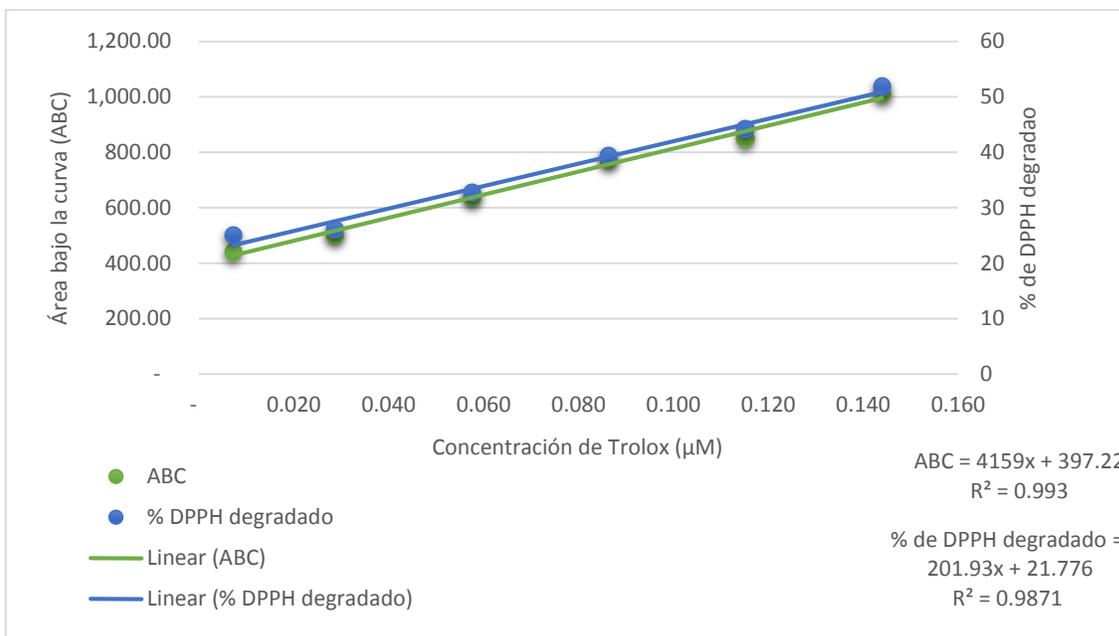
Gráfica 9. Prueba de actividad antioxidante, extracción asistida por 25 minutos de ultrasonido, utilizando la muestra 1



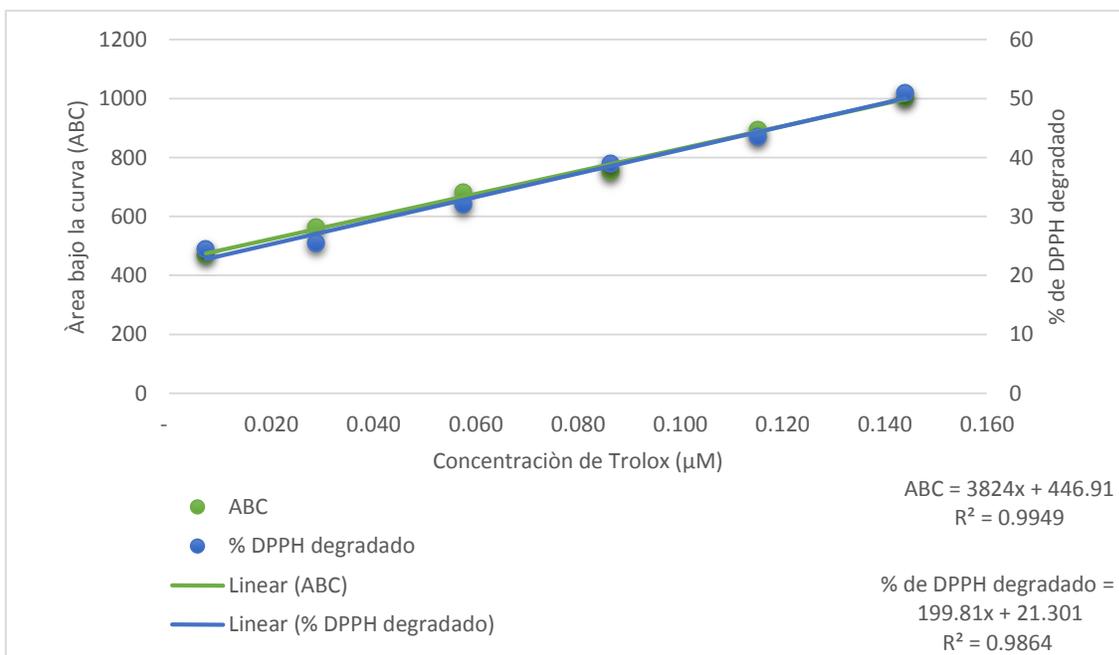
Gráfica 10. Prueba de actividad antioxidante, extracción asistida por 25 minutos de ultrasonido, utilizando la muestra 2



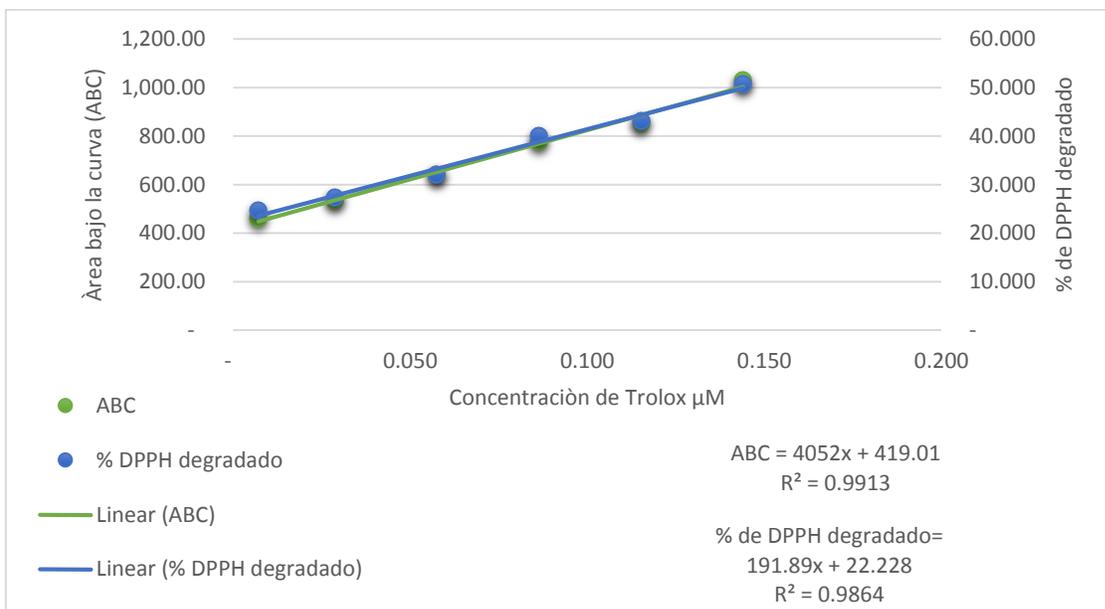
Gráfica 11. Prueba de actividad antioxidante, extracción asistida por 25 minutos de ultrasonido, utilizando la muestra 3



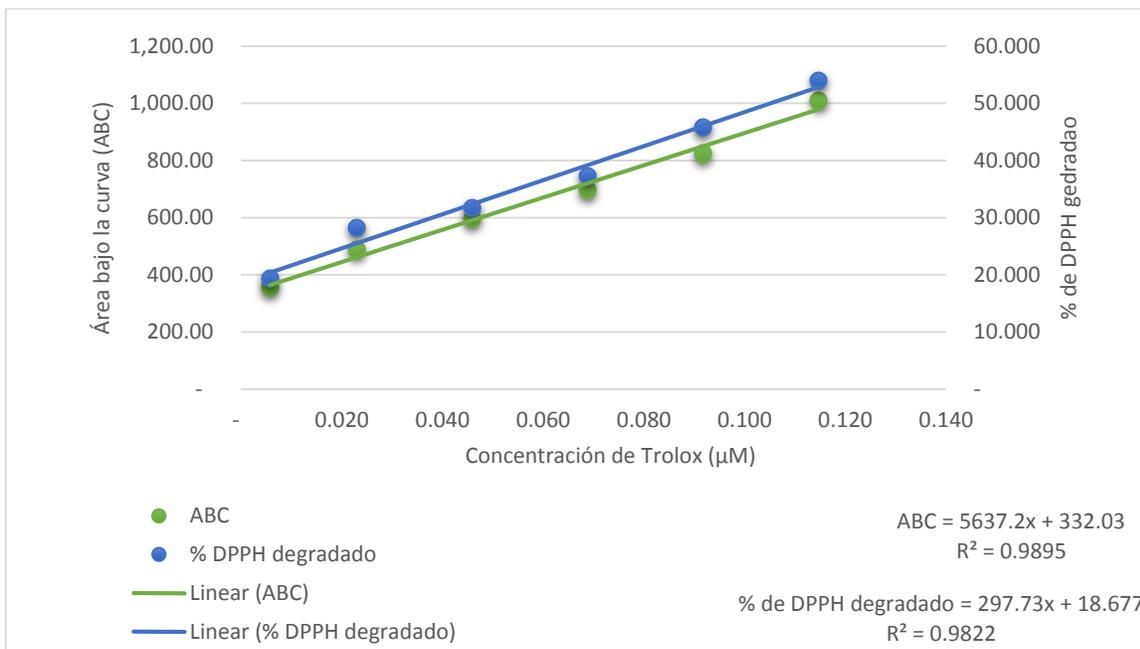
Gráfica 12. Prueba de actividad antioxidante, extracción asistida por 35 minutos de ultrasonido, utilizando la muestra 1



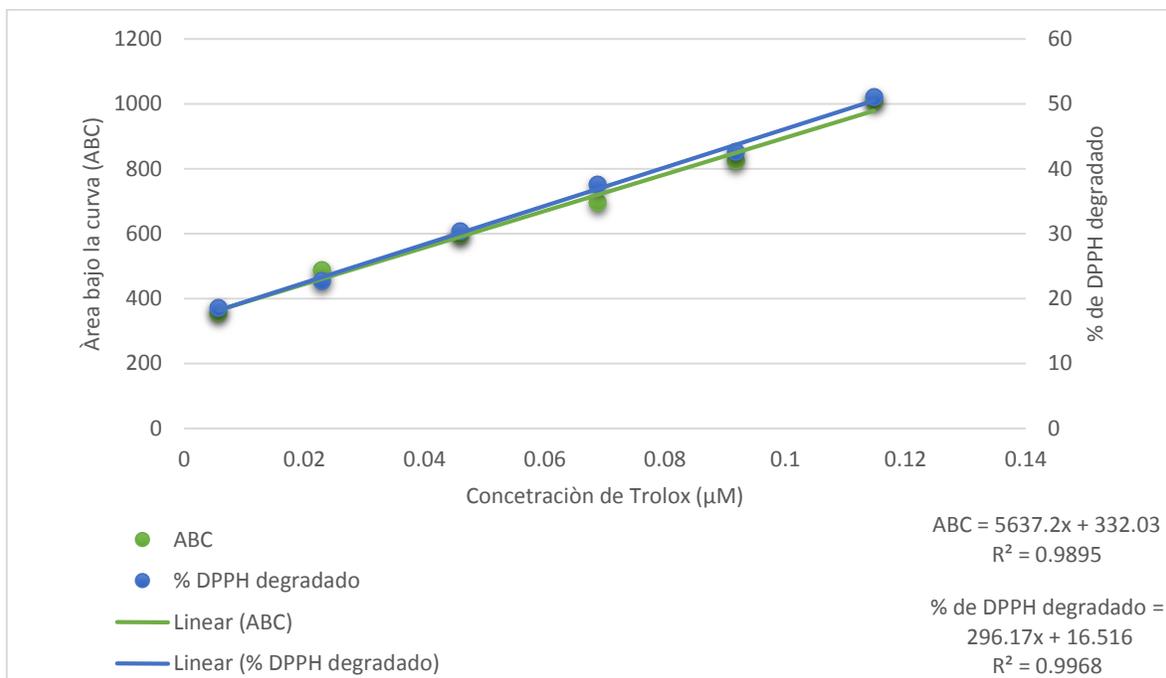
Gráfica 13. Prueba de actividad antioxidante, extracción asistida por 35 minutos de ultrasonido, utilizando la muestra 2



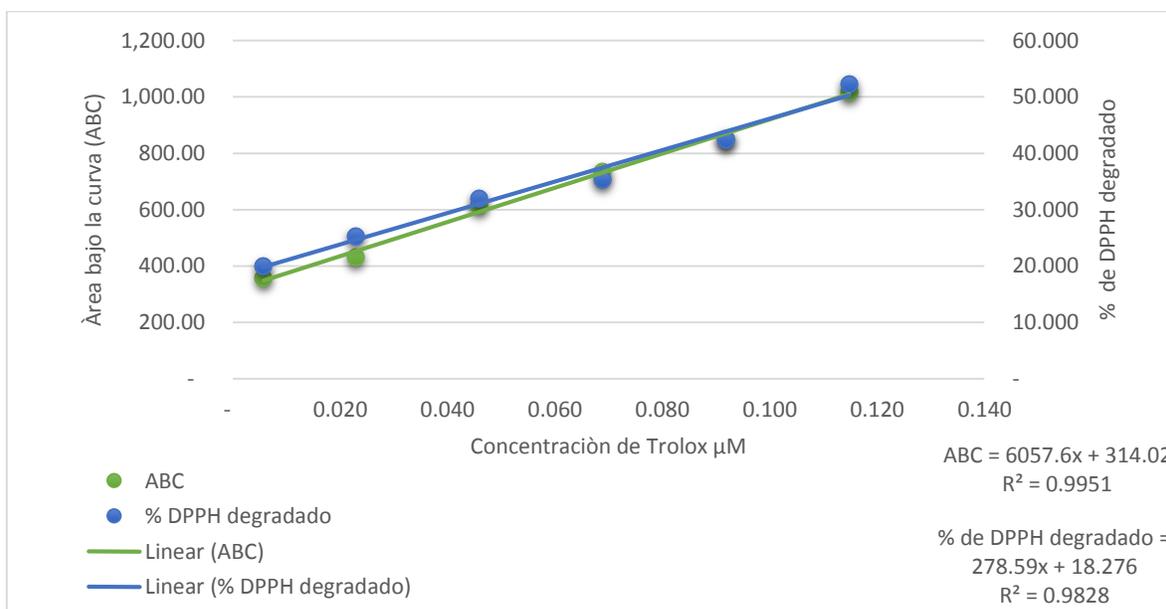
Gráfica 14. Prueba de actividad antioxidante, extracción asistida por 35 minutos de ultrasonido, utilizando la muestra 3



Gráfica 15. Prueba de actividad antioxidante, extracción asistida por 45 minutos de ultrasonido, utilizando la muestra 1



Gráfica 16. Prueba de actividad antioxidante, extracción asistida por 45 minutos de ultrasonido, utilizando la muestra 3



Gráfica 17. Prueba de actividad antioxidante, extracción asistida por 45 minutos de ultrasonido, utilizando la muestra 3