



UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA DE LA MIXTECA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

***DESHIDRATADO DE REBANADAS DE MANGO TOMMY ATKINS
UTILIZANDO EXTRACTOS DE SUS SEMILLAS Y METABISULFITO
DE SODIO COMO PRETRATAMIENTOS***

TESIS

PARA OBTENER EL GRADO DE :

MAESTRO EN CIENCIAS: PRODUCTOS NATURALES Y ALIMENTOS

PRESENTA:

I. A. ANALLELI JIMÉNEZ DURÁN

DIRECTOR DE TESIS:

DR. RAÚL SALAS CORONADO

HUAJUAPAN DE LEÓN, OAXACA, MÉXICO, MARZO DE 2015

El proyecto se realizó en las instalaciones de los Laboratorios en Productos Naturales y Alimentos de la Universidad Tecnológica de la Mixteca. Parte del trabajo experimental se llevó a cabo en los laboratorios del SEBS-Plant Biology & Pathology de la Universidad de RUTGERS campus: New Brunswick, en el estado de New Jersey, Estados Unidos.

Los primeros avances del proyecto se presentaron en la 14^a Feria de Posgrado de Calidad 2013, celebrada en el Distrito Federal del 19 al 26 de abril de 2013, organizada por el CONACYT.

En el 48^o Congreso Mexicano de Química y 32^o Congreso Nacional de Educación Química se presentó el trabajo “Implementación de un método para la cuantificación de sulfitos en alimentos comerciales”, trabajo derivado del proyecto de tesis y realizado de manera conjunta con Yair Josué Cruz Morán. El congreso se realizó en Guanajuato, Guanajuato del 31 de agosto al 4 de septiembre de 2013.

En el 49^o Congreso Mexicano de Química y 33^o Congreso Nacional de Educación Química, se presentó la exposición oral intitulada: “Contenido de compuestos antioxidantes en rebanadas deshidratadas de mango Tommy Atkins, pretratadas con extracto de sus semillas y sulfitos”. El congreso se celebró en Mérida, Yucatán del 17 al 21 de septiembre, 2014.

Como parte del Programa de Movilidad Académica (2014-2015) de la Maestría en Ciencias: Productos Naturales y Alimentos, se realizó una estancia de investigación, en el período comprendido del 1 de junio al 15 de septiembre de 2014, en el Departamento de Biología de plantas y Patología de la Universidad del Estado de New Jersey (Rutgers) bajo la supervisión del Dr. Hector Rodolfo Juliani Profesor-Investigador asistente. Durante este período obtuve un certificado por completar el curso “Entrenamiento de seguridad en el laboratorio/RTK-HAZCOM/RCRA/Higiene Química” que se llevó a cabo el 13 de agosto de 2014. En Rutgers Environmental Health and Safety.

Dedico este trabajo a Dios por proporcionarme los medios y las personas para que fuese posible la realización de este proyecto.

A mis padres Hipólito y Estela por su amor y apoyo incondicional en todas las etapas de mi vida. Pero de manera muy especial a mi mami que me ha apoyado hasta con su vida para que pudiera lograr varios de mis sueños.

A mi esposo Willy por darme su apoyo y amor, por ser parte de mi vida. ¡Te amo!

A mi hija Janita por ser mi mayor motivación y por amarme tanto.

A mis hermanos por estar a mi lado en los momentos más difíciles y felices de mi vida y por demostrarme día con día que la familia es una de las cosas más sagradas de este mundo.

A mi abuelita Carmelita por enseñarme el valor de la fortaleza y darme su cariño.

A mis sobrinos por darme la paz y relajación cuando lo necesitaba, así como su ternura en cada abrazo.

A mis primos por su apoyo cuando se me hacia tarde para ir a la escuela.

A la Dra. Norma y Dr. Raúl por ser como mis segundos padres.

AGRADECIMIENTOS

A mis padres Estela e Hipólito por estar a mi lado en todo momento y ayudarme en los momentos más difíciles de mi vida.

A mi hija Janita y esposo Willy por darme el verdadero amor, también por ser mi mayor motivo para seguir adelante.

A mis hermanos Lupita, Hortencia, Irma, Antonio, Adelaido, Gabriel y Aquileo por compartir lapsos de sus vidas y por darme su amor y cariño.

A mis cuñados y cuñadas por formar parte de mi familia y ser mis segundos hermanos.

A mis amigos Mota, Mag, May, Karla, Nancy, Melchor, Pancho, Yair, Estefi y Mandos por compartir los festejos y hacerme sentir muy especial.

A mis sinodales por sus aportes en el trabajo y compartir su información.

A mi asesor de tesis Dr. Raúl por brindarme su apoyo, conocimientos y consejos.

Al Dr. Héctor Rodolfo Juliani por brindarme el apoyo para realizar mi estancia en Estados Unidos.

A los que me apoyaron de varias maneras como: el Sr. Galdino, Sarita, Carmen, doña Luci, Fabi, Lic. Carmen, Mary y muchos más.

En mi vida hay demasiadas personas a las cuales debo de agradecer, pero creo que nunca terminaría, pero siempre están en mi corazón.

RESUMEN

El mango (*Mangifera indica* L.) es uno de los frutos tropicales de mayor producción en el mundo, además proporciona a la dieta compuestos antioxidantes y nutrientes. Para prolongar la vida de anaquel de éste fruto se puede llevar a cabo un proceso de secado; sin embargo, durante el secado el fruto presenta cambios indeseables de color y una disminución en el contenido de compuestos antioxidantes. Estos efectos pueden atenuarse mediante el uso de pretratamientos, los cuales pueden acelerar la velocidad de secado, mejorar la calidad del producto, evitar la degradación de los compuestos antioxidantes y reducir el oscurecimiento del fruto. Por tal motivo, el presente estudio consistió en evaluar el efecto de tres pretratamientos en el deshidratado de rebanadas de mango en un secador de charolas giratorias. Los tratamientos fueron **PT1**, Na₂S₂O₅ al 0.5%; **PT2**, extracto de semilla de mango al 1.44% y **PT3**, Na₂S₂O₅ al 0.5% + extracto de semilla de mango al 1.44%. El extracto de semilla de mango presentó un contenido de compuestos fenólicos de 230.00±0.08 mg EAG•(100 g de semilla fresca)⁻¹ y una eficiencia antirradicalar de 1.80 x 10⁻⁴ kg de DPPH[•]/g de extracto•min. Los pretratamientos de las rebanadas de mango se llevaron a cabo por inmersión en soluciones preparadas durante 3 min. Las condiciones de secado fueron 60°C, 1.2 m•s⁻¹ y rotación de charolas de 20 rpm hasta obtener una humedad final de 15% aproximadamente. Adicionalmente, se obtuvieron las curvas de secado, las difusividades efectivas y las constantes de velocidad mediante una regresión no lineal utilizando el modelo de Midilli *et al.* (2002). Las mejores retenciones de vitamina C, fenoles totales y carotenos totales se observaron en las rebanadas **PT3** con valores 96.52±5.09 mg EAA•(100 g de masa seca)⁻¹, 368.00±11.84 mg de EAG•(100 g de masa seca)⁻¹ y 10.27±0.23 mg β-caroteno•(100 g de masa seca)⁻¹, respectivamente. También se determinaron los sulfitos, obteniendo una concentración de 900.28±43.97 mg de SO₃²⁻•(kg de masa seca)⁻¹ en **PT3**. Finalmente, se cuantificaron seis compuestos fenólicos (ácido ferúlico, galato de metilo, mangiferina, ácido gálico, ácido cafeico y ácido *p*-cumárico) en las cuatro muestras deshidratadas utilizando un HPLC. Las muestras pretratadas con extracto de semilla de mango (**PT2** y **PT3**) presentaron un incremento drástico en la concentración del ácido *p*-cumárico, con concentraciones de 108.94±0.67 y 102.18±0.55 mg•(100 g de masa seca)⁻¹, respectivamente. En conclusión, el presente estudio demuestra que la combinación de sulfitos con extractos de semilla de mango promueve la fortificación de los compuestos fenólicos, con excepción de la mangiferina, en las rebanadas de mango y disminuye el oscurecimiento durante el proceso de secado.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE FIGURAS	VIII
ÍNDICE DE TABLAS	X
LISTA DE SÍMBOLOS	XI
LISTA DE ABREVIATURAS	XII
1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANÁLISIS DE FUNDAMENTOS.....	3
2.1. PARÁMETROS DE CALIDAD DEL MANGO	3
2.2. SECADO EN CHAROLAS	6
2.3. FACTORES QUE INTERVIENEN EN EL PROCESO DE DESHIDRATADO DEL MANGO	8
2.4. CURVAS DE SECADO, DIFUSIVIDADES EFECTIVAS (D_{EFF}) Y CONSTANTES DE VELOCIDAD (k)	9
2.5. PRETRATAMIENTOS	14
2.6. IMPORTANCIA DE LOS COMPUESTOS ANTIOXIDANTES EN EL MANGO	24
3. ORIGINALIDAD	30
4. OBJETIVOS	31
<i>OBJETIVO GENERAL</i>	31
<i>OBJETIVOS ESPECÍFICOS</i>	31
5. METAS	32
6. METODOLOGÍA.....	33
6.1. OBTENCIÓN Y PREPARACIÓN DEL MANGO	33
6.2. PROPIEDADES FÍSICAS Y QUÍMICAS DE LA SEMILLA Y LA PULPA DE MANGO	33
6.3. OBTENCIÓN DEL EXTRACTO DE SEMILLA	34
6.4. DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIRRADICALAR DE LOS EXTRACTOS DE SEMILLA DE MANGO	35
6.5. PRETRATAMIENTO DE LAS REBANADAS DE MANGO	37
6.5. OBTENCIÓN DE CURVAS DE SECADO, DIFUSIVIDADES EFECTIVAS Y CONSTANTES DE VELOCIDAD DE SECADO	38
6.6. DETERMINACIÓN DE COLOR	39
6.7. CUANTIFICACIÓN DE FENOLES TOTALES	40
6.8. CUANTIFICACIÓN DE VITAMINA C	40

6.9. CUANTIFICACIÓN DE CAROTENOS TOTALES	42
6.10. DETERMINACIÓN DE SULFITOS	43
6.11. IDENTIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS INDIVIDUALES	44
6.12. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	45
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	46
7.1. PROPIEDADES FÍSICAS Y QUÍMICAS DE LA SEMILLA Y PULPA DE MANGO	46
7.2. OBTENCIÓN DE CURVAS DE SECADO, DIFUSIVIDADES EFECTIVAS Y CONSTANTES DE VELOCIDAD DE SECADO	49
7.3. DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS DE CALIDAD DE LAS REBANADAS DESHIDRATADAS	55
8. CONCLUSIONES	66
9. PERSPECTIVAS	68
10. BIBLIOGRAFÍA	69
11. APÉNDICES	76
12. ANEXOS	98

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Productos de las reacciones de Maillard.....	5
Figura 2. Cambios en los parámetros de color L*, a* y b* por efecto de la temperatura...	6
Figura 3. Diagrama del secador de charolas giratorias utilizado en este proyecto	7
Figura 4. Curva típica de secado para condiciones constantes de secado.....	9
Figura 5. Porcentaje de iones libres en solución a diferentes pH's.....	15
Figura 6. Reacción colorida donde se produce el MNB (5-mercaptop-2- nitrobenzoato) a partir de la reacción del sulfito en la estructura del DTNB	18
Figura 7. Reacción del DPPH' en presencia de una especie antioxidante	21
Figura 8. Efecto del extracto de semilla de mango (MSKE) sobre el índice de peróxido, durante el período de almacenamiento del aceite de girasol.....	23
Figura 9. A) Ácido L-ascórbico, B) Ácido L-dehidroascórbico y C) Ácido 2-ceto-L-gulónico.....	24
Figura 10. Reducción del DCIP en presencia de la vitamina C.....	25
Figura 11. Estructura de algunos compuestos fenólicos presentes en la pulpa de mango.	26
Figura 12. Estructura de los carotenoides presentes en la pulpa de mango	29
Figura 13. Curva de la concentración del extracto de la semilla de mango versus el % de inhibición del DPPH' para el cálculo del EC ₅₀	47
Figura 14. Determinación gráfica del tiempo T _{EC50} para el extracto de semilla de mango usando la primera derivada <i>versus</i> tiempo de reacción.	48
Figura 15. Curvas de secado para el mango deshidratado con diferentes pretratamientos	51
Figura 16. Curva de velocidad de secado en función de la razón de humedad de los diferentes pretratamientos.....	52
Figura 17. Gráfica de ln (MR) en función del tiempo de secado a 60°C para las rebanadas de mango pretratadas con metabisulfito de sodio al 0.5%.....	53
Figura 18. Contenido de fenoles totales de mango deshidratado y fresco.....	57

Figura 19. Contenido de vitamina C en muestras de mango deshidratado y fresco	58
Figura 20. Contenido de carotenos en el mango deshidratado y fresco.....	59
Figura 21. Cromatograma de los estándares a 280 nm.	61
Figura 22. Cromatograma de la rebanada de mango deshidratada, pretratada con 100 % de extracto de semilla de mango.....	62
Figura 23. Cromatograma a 365 nm para determinación de la mangiferina. De las muestras pretratadas con $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ al 0.5%.....	63

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Parámetros de color CIELAB para mangos frescos.....	4
Tabla 2. Análisis comparativo de algunos pretratamientos.....	14
Tabla 3. Tiempo de deshidratado de las rebanadas de mango fresco.	17
Tabla 4. Contenido de fenoles totales en algunas semillas de frutas.	19
Tabla 5. Compuestos fenólicos, mg EAG•(100 g de semilla seca) ⁻¹ en semillas de mango.	20
Tabla 6. Clasificación de la eficiencia antirradicalar.	21
Tabla 7. Mediciones de las absorbancias de DPPH*	36
Tabla 8. Pretratamientos para las rebanadas de mango.....	38
Tabla 9. Datos para generar la curva de calibración para sulfitos.....	43
Tabla 10. Propiedades físicas y químicas del mango.....	49
Tabla 11. Medida de los porcentajes de las humedades en las rebanadas de mango.....	50
Tabla 12. Difusividades efectivas de las rebanadas de mango deshidratado.	54
Tabla 13. Constantes de velocidad de secado para las rebanadas de mango deshidratadas.	54
Tabla 14. Color en las rebanadas deshidratadas y fresco.....	55
Tabla 15. Compuestos fenólicos determinados por HPLC en las rebanadas de mango deshidratadas.....	64

LISTA DE SÍMBOLOS

A	Área superficial expuesta; m ² .
<i>a</i> *	Valores positivos (rojo) y valores negativos (verde).
<i>b</i> *	Valores positivos (amarillo) y valores negativos (azul).
D _{eff}	Difusividad efectiva; m ² ·s ⁻¹ .
E _a	Energía de activación; kJ·mol ⁻¹ .
EC ₅₀	Cantidad de muestra requerida para reducir el 50% del radical DPPH.
H	Tono (°).
<i>L</i> *	Luminosidad.
L	Grosor de la rebanada; m.
M _e	Contenido de humedad en equilibrio; kg de agua·(kg de sólido seco) ⁻¹ .
M _o	Contenido de humedad inicial; kg de agua·(kg de sólido seco) ⁻¹ .
M _t	Contenido de humedad en cualquier tiempo; kg de agua·(kg de sólido seco) ⁻¹ .
T _{EC50}	Tiempo necesario para alcanzar el estado de equilibrio a la concentración correspondiente al EC ₅₀ ; min.
W	Peso del sólido húmedo; kg.
W _s	Peso del sólido seco; kg de sólido seco.
MR	Razón de humedad; kg de agua libre·(kg de sólido seco) ⁻¹ .
MR*	Razón de humedad en el equilibrio; kg de agua libre·(kg de sólido seco) ⁻¹ .
MR _t	Razón de humedad en cualquier tiempo; kg de agua·(kg de sólido seco) ⁻¹ .
X ²	Chi-cuadrado.

LISTA DE ABREVIATURAS

AcOEt	Acetato de etilo.
AOAC	Asociación Oficial de Químicos Agrícolas (del inglés Association of Official Agricultural Chemists).
ArOH	Fenoles.
DCIP	2,6-dicloroindofenolato de sodio.
DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidracilo.
DTNB	5,5'-ditiobis-(2 nitrobenzoico).
EA	Eficiencia antirradicalar
EAG	Equivalentes de ácido gálico
EDTA	Etilendiaminotetraacetato disódico.
EtOH	Etanol
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (del inglés Food and Agriculture Organization).
HPLC	Cromatografía líquida de alta eficiencia.
H ₂ O	Agua
MNB	5-mercapto-2-nitrobenzoato.
MeOH	Metanol.
PT1	Pretratamiento con solución de Na ₂ S ₂ O ₅ al 0.5%.
PT2	Pretratamiento con extracto de semilla de mango al 1.44%.
PT3	Pretratamiento con solución de Na ₂ S ₂ O ₅ al 0.5% + extracto de semilla de mango al 1.44%.
Tris	Tris[hidroximetil]aminometano.
UV/Vis	Ultravioleta/Visible

1.INTRODUCCIÓN

El mango (*Mangifera indica* L.) es uno de los frutos comerciales más importantes en el mundo, con una producción global de alrededor de 35 millones de toneladas (FAOSTAT, 2010). Particularmente, México ocupa el tercer lugar en la producción de mango a nivel mundial, con una producción de alrededor de 1.5 millones de toneladas de mango (SIAP, 2012). En México, los estados con mayor producción de mango son Guerrero, Nayarit, Chiapas, Oaxaca, Sinaloa, Veracruz y Michoacán, quienes de manera conjunta aportaron más de 1.38 millones de toneladas de este fruto en el 2012. Es decir, nueve de cada diez mangos de la producción nacional (89%) provienen de estos estados. El estado de Oaxaca con una producción de 191 mil toneladas¹ ocupa el cuarto lugar, del cual sólo el 60% se aprovecha, principalmente para su exportación en fresco y el restante se desecha debido a que no cumple el nivel de calidad para ser exportado o simplemente no es recolectado por los productores (Santiago *et al.*, 2000). Cabe señalar que en los últimos años se han incrementado los productos derivados del mango tales como cubos de mango congelado, Pepsi sabor a mango, mousse de Nestle®, deshidratado The Healthy Fruit®, polvo para bebidas Lipton®, yogur con mango de Actimel, Activia y Vitalinea de Danone®, entre otros. Estos se suman a los productos ya establecidos en el mercado como los jugos, néctares, conservas, purés y deshidrados.

En el ámbito de los alimentos funcionales el mango cobra relevancia por su contenido de mangiferina, galato de metilo, vitamina C y carotenos, siendo compuestos antioxidantes importantes, ya que se ha reportado que estos compuestos presentan actividad gastroprotectora, analgésica, antibacterial, citoprotectora, antitumoral (Ferreira *et al.*, 2013). Sin embargo dichos compuestos son muy sensibles al procesado térmico (Liu *et al.*, 2014; Rodriguez-Amaya, 2001).

¹ Fundación Produce de Guerrero, A. C. MANGO. 2012. <http://fundacionproduceagro.org.mx/wp-content/uploads/2012/05/02-Mango.pdf>

Considerando lo anterior y debido a que los alimentos funcionales proporcionan beneficios a la salud, en la actualidad se le han dado mayor importancia a este tipo de productos (Masís, 2002). Es importante llevar a cabo estudios orientados hacia la obtención de métodos de conservación que sean sencillos de implementar, relativamente rápidos, económicos y que conserven el color, así como la mayor cantidad posible de compuestos antioxidantes del mango. La selección de un proceso de secado adecuado es importante, ya que de éste depende la calidad del producto final. Existen diversos métodos para la conservación de alimentos como el congelado, las presiones altas, la fermentación, la adición de azúcar, los campos eléctricos y el deshidratado, por mencionar algunos (Aguilar, 2012).

La deshidratación, es uno de los métodos más antiguos y usados, que consiste en la extracción del agua contenida en los alimentos por medios físicos. Este proceso es apropiado para prolongar el tiempo de vida del producto. Existen diferentes procesos de deshidratado, los cuales dependen de las características deseadas del producto final como textura, color, sabor. Algunos de estos procesos son el deshidratado por liofilización, por ósmosis, al sol, por aspersión, en lecho fluidizado, asistido por infrarrojo, asistido por microondas y en charolas (Dissa *et al.*, 2008).

En el deshidratado se puede hacer uso de pretratamientos para mejorar la calidad del producto, mediante la reducción del oscurecimiento y de la pérdida de algunos compuestos antioxidantes. Estos pretratamientos consisten en la inmersión de las rebanadas de los alimentos en soluciones de ácido ascórbico, sacarosa, NaHSO_3 , CaCl_2 , NaCl y $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ o extractos ricos en compuestos fenólicos (Chen *et al.*, 2007. Villegas-Santiago, 2011. Malheiro *et al.*, 2013).

En el presente proyecto se hizo uso del extracto acuoso de semilla de mango y sales de metabisulfito de sodio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$) al 0.5%, así como también la combinación de éstos con la finalidad de obtener rebanadas de mango deshidratadas con retención de sus compuestos antioxidantes y la conservación del color característico del mango fresco. Finalmente, se realizó un análisis comparativo de los pretratamientos para determinar el mejor pretratamiento.

2. ANÁLISIS DE FUNDAMENTOS

En la presente sección se describen los parámetros utilizados para evaluar la calidad del mango fresco y sus productos, así como los factores que intervienen en el proceso de deshidratado en un secador de charolas giratorias. Se presenta la importancia de los diferentes pretratamientos utilizados para reducir los efectos ocasionados por el procesamiento con especial énfasis en las ventajas del uso de sulfitos y extractos naturales. También se describe la capacidad antioxidante de las semillas de mango atribuída principalmente a la presencia de compuestos fenólicos y finalmente se presenta la importancia de los compuestos antioxidantes presentes en el mango, entre ellos la vitamina C, los compuestos fenólicos y los carotenos.

2.1. PARÁMETROS DE CALIDAD DEL MANGO

La calidad se refiere al conjunto de propiedades que le confieren las características representativas a un producto para satisfacer las necesidades del consumidor (Escalante, 2006). En el mango fresco la calidad se puede medir a partir de la uniformidad de tamaño y forma, así como por la ausencia de enfermedades, defectos físicos, el color de la cáscara y la pulpa, la firmeza y el sabor de la pulpa (Kader, 2008). Uno de los parámetros de calidad más importantes para medir la calidad del mango tanto fresco como deshidratado es el color y en el fruto ayuda a determinar la madurez y vida postcosecha. La medición de éste parámetro se lleva a cabo a través de técnicas espectrofotométricas utilizando la escala CIELAB. Tales mediciones generan tres valores, L^* , a^* y b^* ; donde L^* mide la luminosidad que varía de cero (negro) a 100 (blanco), de a^{*+} (rojo) a a^{*-} (verde) y de b^{*+} (amarillo) a b^{*-} (azul) (Ribeiro-Rocha *et al.*, 2007). En la Tabla 1 se presentan los parámetros de color para la pulpa de mango maduro fresco. Los valores de L^* , a^* y b^* reportados por Zuluaga *et al.*, 2002 y Ribeiro-Rocha *et al.* (2008), junto con valores de sólidos solubles totales expresados en °Brix en un intervalo de 14 a 16 se pueden usar como indicadores de la etapa de madurez para el mango Tommy Atkins. Estos valores son similares con los reportados por Brecht (2010), quien indica que

esos intervalos coinciden con una etapa de madurez 5 para el mango maduro, en una escala de cinco etapas, 1-5 (Anexo 12.2).

Tabla 1. Parámetros de color CIELAB para mangos frescos.

Referencia	Variedad	L*	a*	b*
Ribeiro-Rocha et al. (2008)	Haden, Tommy Atkins, Palmer y Ubá	55.0-61.0	11.5-14.4	40.0-50.0
Zuluaga et al. (2002)	Tommy Atkins	64.4±4.6	14.7±2.9	61.3±4.2

En el caso de productos de mango deshidratado, los cambios de color pueden ser atribuidos al oscurecimiento enzimático, que se origina por la transformación en sus primeras etapas de compuestos fenólicos en polímeros coloridos, provocando un oscurecimiento rápido principalmente en la parte externa de las muestras (Cheftel y Cheftel, 2000; Zuluaga *et al.*, 2010). Así como también, al oscurecimiento no enzimático, productos de las reacciones de Maillard (Figura 1) producidos por la presencia de aminoácidos y azúcares bajo condiciones de temperatura altas y asistencia de oxígeno (Nursten, 2005).

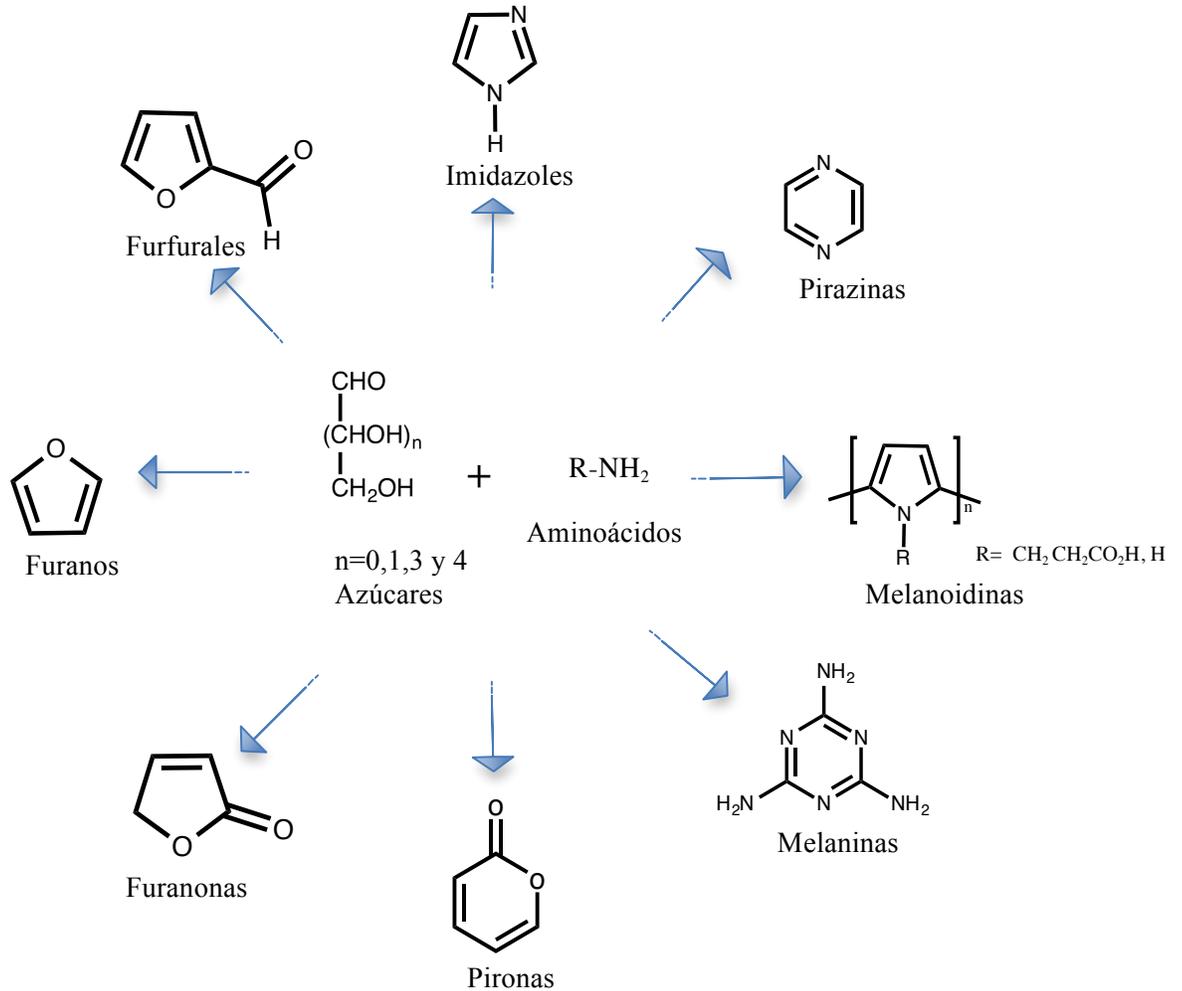


Figura 1. Productos de las reacciones de Maillard (Nursten, 2005).

Otra de las razones por la cual se atribuye el cambio de color es por la foto-oxidación de los pigmentos por acción de la luz, que en combinación con el oxígeno produce una decoloración en los deshidratados (Zuluaga *et al.*, 2010).

El-Amin *et al.* (2008) realizaron deshidrataciones de rebanadas de mango de la variedad Kent usando temperaturas de 60, 70 y 80°C, con una velocidad de aire igual a 1.5 m•s⁻¹ y 3 mm de grosor por rebanada. Los resultados indicaron que el tiempo de secado tiene un efecto significativo sobre el color: los parámetros L*, a* y b* disminuyeron a medida que la temperatura de secado aumentaron (Figura 2).

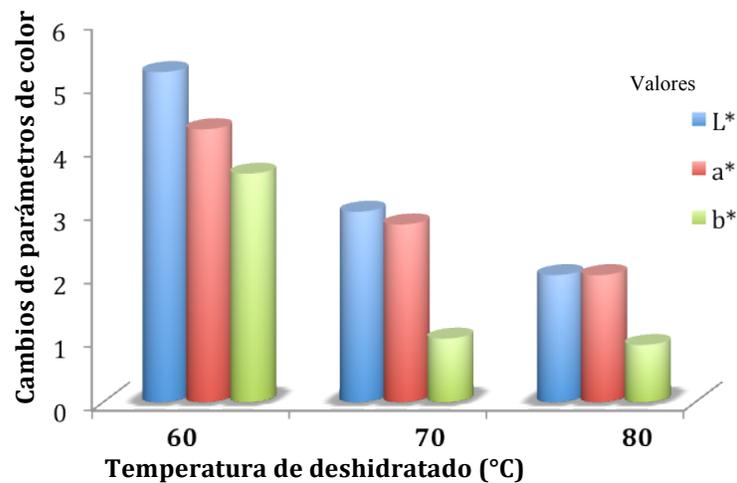


Figura 2. Cambios en los parámetros de color L*, a* y b* por efecto de la temperatura (El-Amin *et al.*, 2008).

Además de los parámetros físicos antes mencionados, se han encontrado parámetros químicos que ayudan a medir la calidad del mango deshidratado, entre ellos se encuentran la vitamina C, los fenoles totales y los carotenos (Santaella y Bruna²).

2.2. SECADO EN CHAROLAS

El secador de charolas es uno de los equipos que más se ha empleado para el deshidratado de frutas y hortalizas (Vega-Mercado *et al.*, 2001). Existen dos tipos de secadores de charolas; giratorias o estáticas. En el primer caso, el producto a deshidratar se pone sobre charolas que giran a ciertas velocidades y, en el segundo, el producto se carga directamente en bastidores fijos dentro del secador.

Secador de charolas giratorias. Este tipo de secadores tienen la ventaja de lograr un secado uniforme de los alimentos deshidratados. En el presente proyecto, se usó un deshidratador de charolas giratorias que fue diseñado y construido en la Universidad Tecnológica de la Mixteca (Figura 3), con características operacionales de: a) temperatura

² <http://www.horticom.com/pd/imagenes/73/161/73161.pdf>

entre 20 y 60°C, b) velocidad de alimentación de aire de 0 a 1.2 m•s⁻¹, y c) uso opcional de la rotación de charolas a 20 rpm.

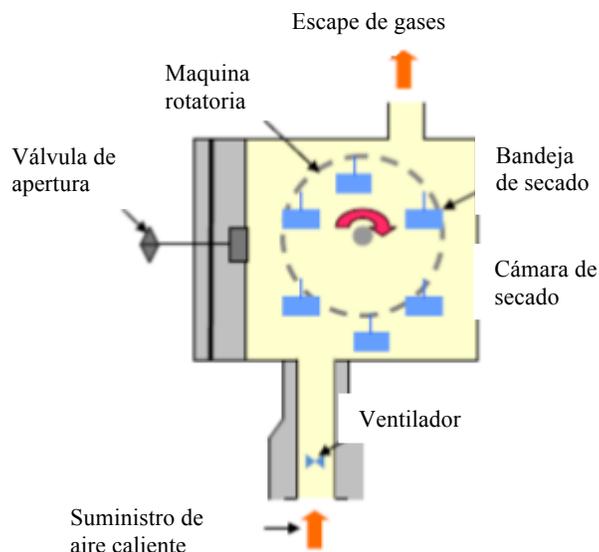


Figura 3. Diagrama del secador de charolas giratorias utilizado en este proyecto. (Santos-Sánchez *et al.*, 2012).

Santos-Sánchez *et al.* (2012) estudiaron el efecto que se genera al utilizar el secador de charolas giratorias a tres diferentes temperaturas de secado (55, 60 y 70°C) y dos velocidades de secado (0.6 y 1.2 m•s⁻¹) sobre los componentes antioxidantes y color durante la deshidratación de jitomate saladette (*Lycopersicon esculentum*). En este trabajo, se reportó que la deshidratación con rotación de charolas, se realizó en menores tiempos de secado que sin el uso de este. Además, los autores evidenciaron que el secado con el giro de las charolas a una temperatura de 60°C y una velocidad de secado de 1.2 m•s⁻¹ estas condiciones minimizan la degradación de fenoles totales en 2.1% y ácido ascórbico en 17.3% en el jitomate.

2.3. FACTORES QUE INTERVIENEN EN EL PROCESO DE DESHIDRATADO DEL MANGO

Las condiciones de secado como temperatura del aire, humedad relativa del aire y flujo de aire, deben ser las adecuadas para obtener productos deshidratados con características físicas y químicas similares al del alimento fresco. A continuación se presentan algunos de estos factores.

2.3.1. Temperatura del aire. En el proceso de secado, conforme se incrementa la temperatura del aire, la velocidad de eliminación del agua en el mango también se incrementa y los tiempos de secado se acortan. Sin embargo a temperaturas mayores a los 80°C, existe una reducción significativa en el contenido de carotenos, vitamina C y fenoles (Caparino *et al.*, 2012). Adicionalmente, a estas temperaturas se empieza a promover el oscurecimiento del producto por efecto de las reacciones de Maillard (Hayes *et al.*, 1998). Desmorieux *et al.* (2008) obtuvieron mango deshidratados de mejor calidad a una temperatura de 60°C. Por otra parte otros autores (Goyal *et al.*, 2006); Jaya y Das, 2003; Ahmed *et al.*, 2002) utilizaron un intervalo de temperatura de 50 a 90°C para deshidratar rebanadas de mango y observaron que los mejores resultados respecto al color y carotenos se obtienen a temperaturas de entre 60 y 72°C. Con base a lo anterior la temperatura que se utilizó en este proyecto fue de 60°C.

2.3.2. Humedad relativa del aire. Es un parámetro importante, que puede afectar el tiempo de secado. Desmorieux *et al.* (2008) realizaron un estudio que consistió en evaluar el efecto del contenido de humedad en el aire secante durante el deshidratado de mango. Estos autores reportan que entre mayor cantidad de agua haya en el aire secante, se requiere mayor tiempo de secado. También, que el deshidratado se puede llevar a cabo con una humedad relativa de aire máxima del 60% y obtener un secado de mango sin afectar la calidad del producto por degradación enzimática o bacterial.

2.3.3. Velocidad del aire secante. Se ha demostrado que a velocidades de aire superiores a 6 m·s⁻¹ en combinación con aire secante de contenido de humedad bajo (< 20%), temperaturas superiores a 100°C y el estado de madurez del alimento, favorecen la formación de costras, esto es una limitante para obtener un deshidratado uniforme (Desmorieux *et al.*,

2008).

Autores como Corzo *et al.* (2008), Kabiru *et al.* (2013) y El-Amin *et al.* (2008) aplicaron una velocidad de aire para el deshidratado de mango en el intervalo de 1.5 a 3.5 m•s⁻¹ sin reportar la presencia de costras. Por tal motivo en este proyecto se llevó a cabo la deshidratación del mango a una velocidad de aire de 1.2 m•s⁻¹.

2.4. CURVAS DE SECADO, DIFUSIVIDADES EFECTIVAS (D_{eff}) Y CONSTANTES DE VELOCIDAD (k)

El comportamiento de la remoción de agua durante el proceso de deshidratado de un alimento tiene un patrón general de comportamiento representado por una curva de secado bajo condiciones constantes de secado, Figura 4.

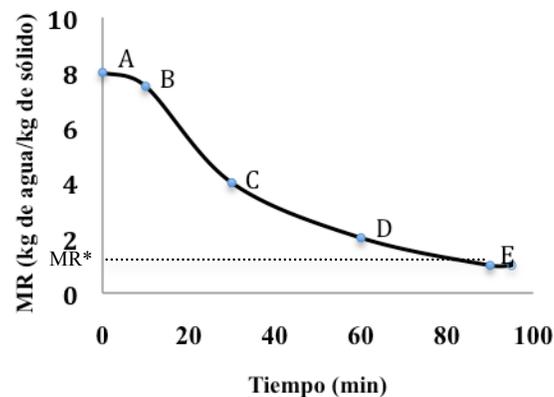


Figura 4. Curva típica de secado para condiciones constantes de secado (Foust *et al.*, 1987).

El segmento **AB** de la curva, se observa un periodo de estado inestable durante el cual la temperatura del alimento está variando. El segmento **BC** se define como el periodo de velocidad constante; en este intervalo la superficie total del alimento expuesta al aire secante se encuentra saturada de agua. La temperatura de la superficie del alimento alcanza la temperatura de bulbo húmedo del aire secante. El periodo de velocidad de secado constante

ocurre solamente durante el tiempo en que la masa de agua transferida desde la superficie al aire circundante es reemplazada de manera continua por el movimiento del agua desde el interior del alimento. En el segmento **CD**, el agua en la superficie del alimento comienza a agotarse debido a que la difusión del líquido hacia la superficie es menor que la velocidad de transferencia de masa desde la superficie. En el segmento **DE**, a medida que las humedades relativas del aire secante y del alimento se aproximan entre si, la velocidad de secado disminuye hasta no existir más cambios en el alimento; por lo tanto se llega al equilibrio en el punto **E** (MR^* = Razón de humedad de equilibrio).

Los mecanismos mediante los cuales se puede transferir la masa (agua) durante el deshidratado son la convección, migración y difusión (Ortíz *et al.*, 2006). Éste último es el mecanismo predominante en el proceso de deshidratado y consiste en el transporte de masa desde una parte de un sistema de mayor concentración a otro de menor concentración como un resultado de movimientos moleculares aleatorios (Crank, 1975). El fenómeno de difusión se observa en el segmento **CD** de la Figura 4 debido a que es donde se da la eliminación del agua desde el centro de la rebanada hacia la superficie. La velocidad de movimiento del agua en el alimento expresada en función del mecanismo de difusión se expresa mediante la segunda Ley de Fick modificada (Foust *et al.*, 1987).

$$\frac{dC_i}{dt} = D^* \frac{d^2 C_i}{dx^2} \quad (1)$$

Donde:

D = Coeficiente de difusión, C_i =Concentración inicial, x = Distancia, t = Tiempo.

En los modelos generales de transferencia de masa se suelen hacer una serie de suposiciones, por ejemplo, que las superficies del material son lisas y no porosas, que también tienen una forma perfectamente definida. Sin embargo, esto no es totalmente cierto ya que algunos alimentos tienen la superficie porosa. Debido a lo anterior, es necesario introducir una serie de factores de corrección que permitan obtener un valor más cercano a la realidad. Este valor corresponde a la difusividad efectiva (D_{eff}). Este parámetro puede ser usado bajo las siguientes consideraciones:

- La materia no posee una superficie homogénea.

- Los poros no son rectos ni cilíndricos, poseen una serie de caminos irregulares con interconexiones.
- Los poros poseen un área transversal variable.
- No toda el área normal a la dirección del flujo está disponible para difusión de las moléculas.

A partir de las consideraciones anteriores, Sherwood y Newman postularon la Ecuación 2 que permite generar soluciones aproximadas del parámetro D_{eff} (Foust *et al.*, 1987).

$$MR = \sum_{n=0}^{\infty} \frac{8}{\pi^2 (2n+1)^2} \exp \left[-(2n+1)^2 \frac{\pi^2 D_{\text{eff}} t}{4L^2} \right] \quad (2)$$

L =Espesor.

$$MR = \frac{MR_t - MR^*}{MR_0 - MR^*} = \text{Razón de humedad: Es un contenido de humedad adimensional.}$$

Donde:

MR^* = Razón de humedad en el equilibrio: Es el mínimo contenido de humedad en la cual un alimento puede teóricamente ser secado bajo condiciones de deshidratado establecidas.

MR_0 = Razón de humedad inicial: Es la primera razón de humedad obtenida.

MR_t = Razón de humedad al tiempo t : Calculado con los datos experimentales obtenidos.

$MR_t = \frac{W - W_s}{W_s}$: $W \rightarrow$ peso del sólido húmedo. $W_s \rightarrow$ peso del sólido seco (se obtiene multiplicando la masa inicial de la muestra con la fracción de la masa seca).

En la Ecuación 2, se requieren establecer las condiciones límite de operación y especificar las características de la difusividad efectiva (D_{eff}). La consideración más simple es establecer que la D_{eff} es constante y que el secado se favorece ya sea a través de una o dos de las caras del alimento. El equilibrio en la fase interna como una condición de frontera es un factor clave para el uso de esta Ecuación.

La solución a la ecuación anterior, se logra usando la condición: $F = \frac{D_{eff} * t}{4L^2} > 0.1$ para períodos de secado mayores a 5 min (Aguerre *et al.*, 1985). Bajo éstas condiciones, la contribución de los términos generados por $n = 1, 2, 3, \dots$, en la Ecuación 2 se hace prácticamente nula y por lo tanto se puede reducir a su mínima expresión, usando $n = 0$ (Apéndice 11.1). Con esta consideración se obtiene:

$$MR = \frac{8}{\pi^2} \exp\left(-\pi^2 \frac{D_{eff}}{4L^2} t\right) \quad (3)$$

Al aplicar el logaritmo natural a la Ecuación 3, se obtiene:

$$\ln MR = \ln \frac{8}{\pi^2} - \left(\frac{\pi^2 D_{eff}}{4L^2}\right) t \quad (4)$$

La Ecuación 4 es una función lineal de $\ln MR$ en función del tiempo. La D_{eff} por lo tanto se puede determinar a partir de la pendiente de esta función:

$$Pendiente = \frac{\pi^2 D_{eff}}{4L^2} \quad (5)$$

Villa-Corrales *et al.* (2010) usaron este método matemático para determinar la difusividad efectiva de rebanadas de mango Ataulfo deshidratadas utilizando intervalos de temperatura 50-70°C y grosor de 2-5 mm, los autores reportaron las difusividades efectivas de $4.41-5.95 \times 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$. Así mismo Dissa *et al.* (2008), deshidrataron rebanadas de mango con 5 mm de grosor utilizando dos temperaturas de secado 60 y 70°C y reportaron valores de difusividades efectivas de 1.09×10^{-9} y $4.05 \times 10^{-9} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ para cada una de las temperaturas respectivamente. Por otro lado Edoun *et al.* (2014), reportaron una difusividad efectiva de $7.395 \times 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ para rebanadas de mango de 3 mm de grosor que se deshidrataron a una temperatura de 60°C con velocidad de aire de $0.6 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$.

En las curvas de secado, es de interés emplear modelos para describir el comportamiento de los datos de deshidratación. La ecuación 6 propuesta por Lewis, empleada para describir el comportamiento de secado, es análoga a la ley del enfriamiento de Newton.

$$\frac{dMR}{dt} = k(MR - MR^*) \quad (6)$$

Asumiendo que la cantidad de masa (M) depende del tiempo de secado (t), la integración de la Ecuación 7, genera una solución, representada por la siguiente ecuación (Apéndice 11.2).

$$MR = \frac{MR_t - MR^*}{MR_0 - MR^*} = e^{-kt} \quad (7)$$

El modelo descrito anteriormente sirve sólo para predecir comportamientos simples, por lo que se han desarrollado nuevos modelos. Se han utilizado aproximadamente 16 modelos matemáticos para explicar el comportamiento del deshidratado de frutas y hortalizas (Apéndice 11.3). El modelo de Midilli *et al.* (2002) es uno de los modelos que presenta un muy buen ajuste a los datos de deshidratado de mango, así como de otras frutas y hortalizas (Akpınar, 2006; Edoun *et al.*, 2014).

$$MR = a \exp(-kt^n) + bt \quad (8)$$

Donde:

k = constante de velocidad de secado.

a , b y n = constantes del modelo.

En el 2006, Akpınar utilizó 13 modelos matemáticos para predecir el comportamiento del deshidratado de rebanadas de papa, manzana y calabaza. Utilizando un intervalo de temperaturas de 60-80°C y velocidades de aire de 1-1.5 m•s⁻¹, este autor reportó que el modelo de Midilli *et al.* (2002) produjo los mejores resultados, mostrando buenas correlaciones, con valores de $R^2 = 0.9955-0.9984$ y $\chi^2 = 2.26-7.76 \times 10^{-4}$, para los datos experimentales de todos los productos deshidratados. Así mismo Edoun *et al.* (2014) realizaron el deshidratado de rebanadas de mango de 3 mm de grosor usando una temperatura de 60°C y velocidad de aire de 0.6 m•s⁻¹. Estos autores evaluaron 7 modelos matemáticos de secado para representar las curvas de velocidad de secado y determinaron el nivel de ajuste con respecto a los valores experimentales. A partir de esos estudios encontraron que el modelo de Midilli *et al.* (2002) presentó el mejor ajuste con respecto a los datos de secado experimentales, con valores de $R^2 = 0.9981$ y de $\chi^2 = 1.297 \times 10^{-4}$.

2.5. PRETRATAMIENTOS

En el proceso de deshidratado se usan ampliamente diferentes pretratamientos para evitar reacciones generadoras de oscurecimiento, así como la pérdida de compuestos antioxidantes. En la Tabla 2 se presentan algunos pretratamientos y sus efectos, también se observa que los sulfitos y los extractos tienen mayores efectos de protección hacia compuestos antioxidantes.

Tabla 2. Análisis comparativo de algunos pretratamientos.

Pretratamientos	Oscurecimiento enzimático	Otros efectos
Sulfitos	Limita	Acelera la deshidratación. Ayuda a retener las vitaminas A y C.
Ácido cítrico	Limita	Disminuye pH
Ácido ascórbico	Limita fuertemente	Disminuye pH
Almibar	No influye	Deshidratación parcial y sabor
Salmuera	Limita poco	Deshidratación parcial y sabor
Extractos	No influye	Ayuda a retener y reducir la degradación de compuestos antioxidantes. Disminuye el pH

(Almada *et al.*, 2005 y Abdalla *et al.*, 2007).

Debido a que los sulfitos presentan una amplia gama de funciones, se presentan con más detalle a continuación.

2.5.1. Sulfitos. Estos se utilizan comercialmente en procesos de deshidratado de mango con la finalidad de lograr de manera general su preservación física, microbiológica y retener sus componentes antioxidantes (Zou *et al.*, 2013). Por otra parte, estos compuestos ayudan a incrementar la velocidad de secado, disminuyendo así los costos del proceso. Bajo el nombre de sulfitos se agrupan el ácido sulfuroso (H_2SO_3), los iones sulfito (SO_3^{2-}) y bisulfito (HSO_3^-) en diferentes proporciones que dependen del pH de la solución como se presenta en la Figura 5, en esta se observa la importancia del pH para mantener cierto tipo de ión en solución, por ejemplo el ión sulfito se presenta en mayor porcentaje cuando se encuentra a pH's de 8 hasta 10. Este hecho es muy importante para cuando se realiza la cuantificación de alguno de los oínoes, por su estabilidad (Meiping y Yongjie, 2006).

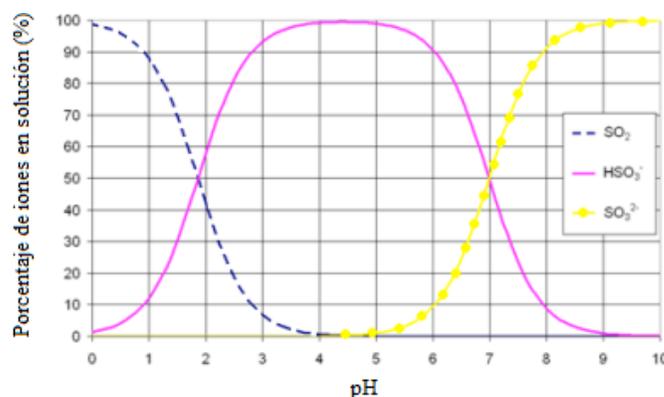


Figura 5. Porcentaje de iones libres en solución a diferentes pH's³.

Los sulfitos y el dióxido de azufre son sustancias que tienen una amplia gama de funciones, como se detalla a continuación:

a) Inhibición del oscurecimiento no enzimático. Bloquean los grupos carbonilo libres presentes en los azúcares, de tal forma que un átomo de azufre reacciona con dos moléculas de glucosa y evitan que éstos interactúen con los aminoácidos. Previniendo la formación de productos de oscurecimiento derivados de las reacciones de Maillard. También se ha demostrado que estos compuestos ejercen una acción decolorante (Wedzicha *et al.*, 1991).

b) Inhibición del oscurecimiento enzimático. Debido a su poder reductor, inhiben la síntesis de quinonas, actúan como agentes quelantes, y son capaces de extraer los átomos de cobre del centro activo de las enzimas polifenol oxidasas, produciendo su inactivación (Hernandez-Valdez, 2009). Cabe señalar que las quinonas son productos de la oxidación de compuestos fenólicos.

c) Prevención del deterioro oxidativo. Actúan reduciendo el oxígeno molecular presente en el alimento. De esta manera el oxígeno no está disponible en las reacciones de oxidación de los compuestos bioactivos que son susceptibles a ser oxidables, provocando la generación de sulfatos (Almeida y Nogueira, 1995).

³ Proposition 65, Interpretative Guideline No. 2012-02. Consumption of Sulfur Dioxide in Dried Fruits. http://oehha.ca.gov/prop65/law/pdf_zip/SO2driedfruitIG.pdf

d) Prevención del crecimiento de bacterias y hongos. Ejercen una acción antimicrobiana sobre diversos hongos, levaduras y bacterias, cuyo modo de acción no se conoce totalmente. Existen varias teorías al respecto que se basan en el hecho de que el H_2SO_3 penetra en la célula microbiana y provoca: 1) reacciones de condensación con el acetaldehído de las células, 2) reacciones con enzimas que contienen enlaces disulfuro, y 3) interferencias en los mecanismos de respiración de los microorganismos en los que interviene la nicotinamida adenina dinucleótido (Calvo, 1991).

El uso de los sulfitos en el mango deshidratado es común y existe un número importante de estudios relacionados con los beneficios que tienen en la calidad del producto final. Por ejemplo, Chen *et al.* (2007) realizaron un estudio para determinar la estabilidad de los carotenoides en el deshidratado de mango var. Taiwanese. El estudio consistió en aplicar un pretratamiento con NaHSO_3 al 1% en el mango, previo a su deshidratación a una temperatura de aire secante de 60°C . Los resultados mostraron que el mango pretratado deshidratado contenía $4.23 \text{ mg} \cdot (100 \text{ g de carotenos totales})^{-1}$, mientras que el mango sin pretratar presentó $3.28 \text{ mg} \cdot (100 \text{ g de carotenos totales})^{-1}$. El uso de NaHSO_3 al 1%, permitió incrementar la retención de los carotenos totales en un 28.9% en el mango pretratado. Por otro lado Goyal *et al.* (2006), realizaron deshidratados de mango var. Dasehari utilizando tres temperaturas y tres pretratamientos como se presenta en la tabla 3, en esta, se observa que el mango pretratado con $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_5$ necesita menos tiempo de deshidratado comparado con los otros pretratamientos y que a temperatura mayor se reduce el tiempo en todos los casos excepto para la muestra control.

Tabla 3. Tiempo de deshidratado de las rebanadas de mango fresco.

Temperatura de deshidratado, °C	Pretratamiento	Tiempo de deshidratado, min
55	Control	210
	Escaldado	210
	Metabisulfito de potasio al 1%	180
60	Control	210
	Escaldado	180
	Metabisulfito de potasio al 1%	150

(Goyal *et al.*, 2006)

Debido a que los sulfitos son utilizados ampliamente a nivel comercial, se han establecido normas para regular las concentraciones en los diversos productos procesados. En México la Norma Oficial Mexicana NOM-130-SSA1-1995 regula la concentración de sulfitos en algunos alimentos como frutas en almíbar, ates, mermeladas, salsas y jaleas. El límite máximo establecido en ésta norma para los alimentos antes mencionados es de 100 mg de sulfitos•(kg de alimento)⁻¹.

La NOM-130-SSA1-1995 no hace mención de la concentración permitida para productos deshidratados derivados de frutas. Sin embargo, existen reportes en la literatura científica que mencionan concentraciones de sulfitos en alimentos sólidos, entre ellos deshidratados. Por ejemplo, Isaac *et al.* (2006) reportaron un intervalo de 280 a 2100 mg de sulfitos•(kg de alimento deshidratado)⁻¹. La US Federal Register (1988) estableció una concentración límite de 2000 mg de sulfitos•(kg de fruto deshidratado)⁻¹.

Para la identificación y cuantificación de sulfitos en alimentos, se hace uso de ensayos cualitativos, métodos colorimétricos y de polarografía de pulso diferencial (AOAC, 1995; 963.20, 961.09, 987.04). Para la cuantificación de sulfitos en alimentos el método 5,5'-ditiobis-(2-nitrobenzoico) (DTNB) es una buena alternativa para la determinación rápida del sulfito ya que sólo necesita un reactivo principal y el método es robusto y fácil de operar con el rango lineal de 0.10 a 4.3 mg SO₂•L⁻¹ (Meiping y Yongjie, 2006). En este método se han reportado interferencias en la cuantificación de sulfitos causados por la oxidación catalítica de estos mismos en presencia de iones de los metales de transición originando un error al

disminuir la concentración real: También se conoce que el NO_2^- está involucrado en la reacción cromogénica, originando un error al aumentar en la concentración real. Para que se lleven a cabo las reacciones que originan los errores antes mencionados se necesitan concentraciones mínimas de $\text{Cu}^{2+} = 3.7 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, $\text{Mn}^{2+} = 26 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, $\text{Mg}^{2+} = 130 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ y $\text{NO}_2^- = 5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (Sadegh y Schreck 2003). Para el caso del mango según Hofman *et al.* (1997) las concentraciones de Mg, Na, K están por debajo de las concentraciones que pudieran causar interferencias en la determinación de los sulfitos.

En la Figura 6 se muestra la reacción de DTNB-Sulfito donde el sulfito rompe el enlace azufre-azufre generando dos compuestos: un tiosulfato denominado “sal de Bunte” y el 5-mercapto-2-nitrobenzoato (MNB), éste último produce una coloración amarilla que puede medirse espectrofotométricamente.

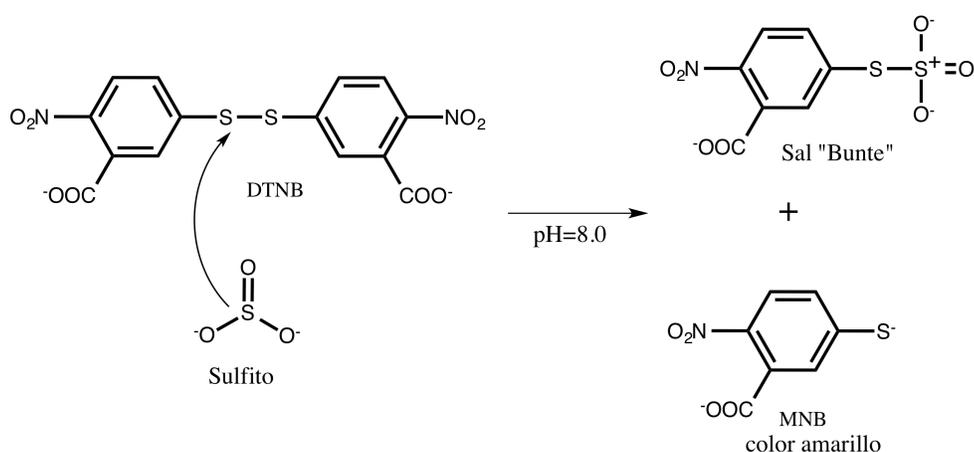


Figura 6. Reacción colorida donde se produce el MNB (5-mercapto-2- nitrobenzoato) a partir de la reacción del sulfito en la estructura del DTNB (Sadegh y Schreck, 2003).

2.5.2. Importancia de la semilla de mango y el uso de su extracto. Las semillas de mango en base fresca contienen en promedio 2.6% de proteína, 4.2% de grasa, 7.9% de azúcar total, 0.9% de fibra, 57.8% de almidón y 10.6% de taninos (Garg y Prakash. 2006). Cabe resaltar que la concentración de compuestos fenólicos totales en el extracto de semilla de mango Tommy Atkins es de $20,035 \text{ mg EAG}\cdot(100\text{g de extracto})^{-1}$ aproximadamente 6 veces mayor con respecto a la concentración presente en extracto de la cáscara (Sogi *et al.*, 2013).

La concentración de compuestos fenólicos en la semilla de mango es alta, comparada con la de otras semillas de frutas (Tabla 4). Estos datos respaldan la factibilidad de utilizar industrialmente la semilla de mango como ingrediente alimenticio funcional o su aplicación en pretratamientos durante el procesado de alimentos.

Tabla 4. Contenido de fenoles totales en algunas semillas de frutas.

Semilla	Contenido de fenoles totales, mg•(100g de semilla fresca)⁻¹
Mango var. Keaw ^a	98.7±8.8
Mango ^b	117±13.5
Tamarindo ^b	94.5±4.5
Aguacate ^b	88.2±2.2
Yaca ^b	27.7±3.4

^a (Kittiphoom and Sutasinee, 2013)

^b (Soong and Barlow, 2006)

La semilla de mango contiene diversos compuestos fenólicos. En la Tabla 5 se muestran los compuestos más importantes presentes en las semillas de mangos maduros de las variedades Zebda, Balady y Succary originarios de Egipto (Masibo y He, 2008). Estas semillas se obtuvieron a partir de los desechos de plantas procesadoras de mango.

Tabla 5. Compuestos fenólicos, mg EAG•(100 g de semilla seca)⁻¹ en semillas de mango.

Compuestos fenólicos	Cantidad, mg EAG•(100 g) ⁻¹
Tanino	20.7
Ácido gálico	6.0
Cumarina	12.6
Ácido cafeico	7.7
Vainillina	20.2
Mangiferina	4.2
Ácido ferúlico	10.4
Ácido cinámico	11.2
Compuestos desconocidos	7.1
Contenido de fenoles totales	112

(Masibo y He, 2008)

Maisuthisakul (2008) reportaron el contenido de fenoles totales en semillas de mango de algunas variedades originarias de Tailandia, y encontraron que el valor promedio de éstos compuestos fue de 96.20 mg EAG•(100 g de semilla fresca)⁻¹. En ese mismo estudio se reporta la actividad antioxidante de los extractos de semillas de mango mostrando un intervalo de $EC_{50} = 13.06 \pm 0.86 - 19.69 \pm 0.16$ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$).

Para medir la actividad antioxidante de los extracto frente al radical DPPH• se utiliza el valor del EC_{50} , definido como la concentración de extracto necesaria para reducir en un 50 % la concentración del radical DPPH• en el medio de reacción. El radical DPPH• es relativamente estable y reacciona con los antioxidantes aceptando un radical hidrógeno, para formar una molécula estable, Figura 7 (Maisuthisakul *et al.*, 2007).

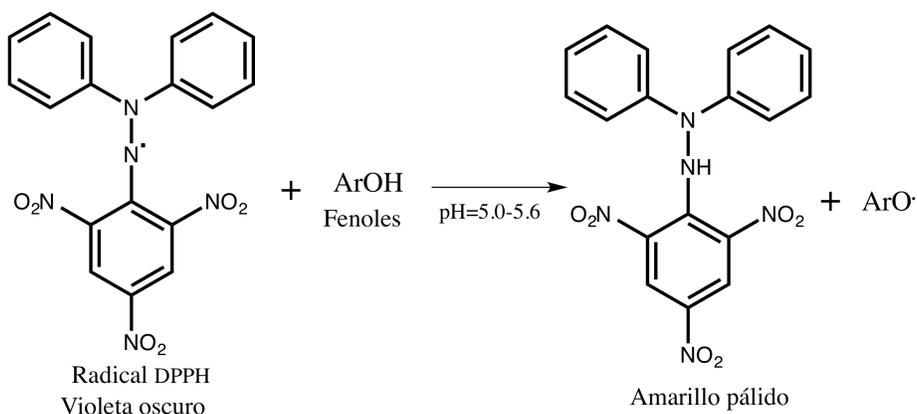


Figura 7. Reacción del DPPH• en presencia de una especie antioxidante (Maisuthisakul *et al.*, 2007).

El poder antioxidante es el resultado de la capacidad para evitar la oxidación medida por la reducción de los radicales libres del sustrato a baja concentración y a la estabilidad del radical resultante. Sánchez-Moreno *et al.* (1998) consideran que se debe de tener en cuenta también, la relación de una concentración baja y tiempos cortos de reacción para poder definir a la capacidad antioxidante. Tomando en cuenta esta consideración, éstos autores proponen el parametro de eficiencia antiradicalar (EA), el cual nos proporciona información sobre la rapidez con que se lleva a cabo la reacción del antioxidante. En la Tabla 6 se presenta una clasificación de la eficiencia antiradicalar.

Tabla 6. Clasificación de la eficiencia antiradicalar.

Intervalo de EA	Clasificación
$EA \leq 1 \times 10^{-3}$	Bajo
$1 \times 10^{-3} < EA \leq 5 \times 10^{-3}$	Medio
$5 \times 10^{-3} < EA \leq 10 \times 10^{-3}$	Alto
$EA > 10 \times 10^{-3}$	Muy alto

(Sánchez-Moreno *et al.*, 1998)

En años recientes el uso de los extractos naturales ha aumentado de manera importante debido a que éstos confieren propiedades antioxidantes y antimicrobianas a los alimentos, logrando preservar el color y mantener o incrementar la vida de anaquel de éstos (Nanasombat y Wimuttigosol, 2011).

Se han utilizado los extractos de las semillas de mango debido a su poder antioxidante y antimicrobiano. Abdalla *et al.* (2007) usaron extractos de semillas de mango de variedades cultivadas en Egipto. Para evaluar el efecto de extractos de semilla mango sobre la vida de anaquel de aceite de girasol, se realizaron dos experimentos: el primer experimento consistió en almacenar el aceite durante 12 meses en ausencia de luz y el segundo experimento en exponer el aceite durante 12 semanas a la luz y temperatura ambiental. Para éstos experimentos, se utilizaron concentraciones de 200, 400 y 800 ppm de extracto de semilla de mango. Los resultados mostrados en la Figura 8 indican que el aceite tratado con extracto a una concentración de 800 ppm presentó una rancidez oxidativa menor que a concentraciones menores.

Estos autores también analizaron la combinación de los extractos de semilla y aceite de mango para evitar la oxidación de papas fritas, los resultados mostraron que al usar una solución con una concentración de 400 ppm de extracto y 5% de aceite de semilla de mango, las papas fritas tuvieron mejor color, sabor y frescura con una aceptación general de 3.4. Este valor resulto alto con respecto al control (sin la presencia de extracto y aceite de la semilla de mango) el cual presentó una aceptación de 1.5. Estos resultados pueden explicar considerablemente que los extractos contienen una cantidad alta de compuestos fenólicos que son responsables de la actividad antioxidante, lo que ayudó a neutralizar los radicales libres y a reducir la presencia de los peróxidos.

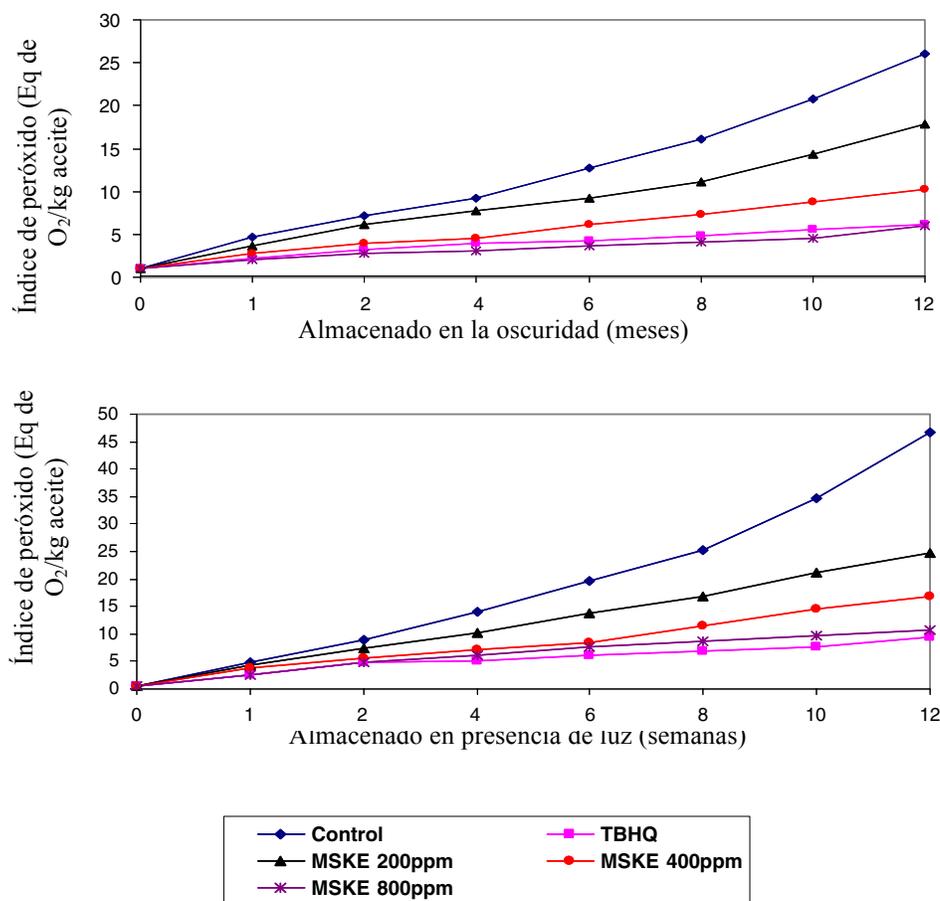


Figura 8. Efecto del extracto de semilla de mango (MSKE) sobre el índice de peróxido, durante el período de almacenamiento del aceite de girasol (Abdalla *et al.*, 2007).

Es importante resaltar que aunque los extractos de la semilla de mango presentan una actividad antioxidante potente; pero que, generalmente se desechan como residuos durante la elaboración y el consumo de la fruta de mango. Se conoce que, en algunos países como la India y Fiji, éstas semillas se utilizan de manera tradicional para el tratamiento de disentería, sinusitis y caspa (Barreto *et al.*, 2008).

2.6. IMPORTANCIA DE LOS COMPUESTOS ANTIOXIDANTES EN EL MANGO

El mango contiene una mezcla de antioxidantes compuesta por fenoles, vitamina C, carotenoides, entre otros (Schieber *et al.*, 2000). Se ha reportado que estos compuestos antioxidantes tienen actividad antimicrobiana, anticancerígena, antiinflamatoria, antiviral, antifúngica, inmunomoduladora (Sahu *et al.*, 2007; Ribeiro-Rocha y Schieber, 2010; Masibo y He, 2008).

Cabe mencionar que debido a la importancia biológica y abundancia de los compuestos fenólicos en el mango, en la sección 2.6.2 se describen de manera individual aquellos que son objeto de estudio en el presente trabajo.

2.6.1. Vitamina C. Esta puede presentarse en forma de ácido L-ascórbico, ácido L-dehidroascórbico o ácido 2-ceto-L-gulónico (Figura 9).

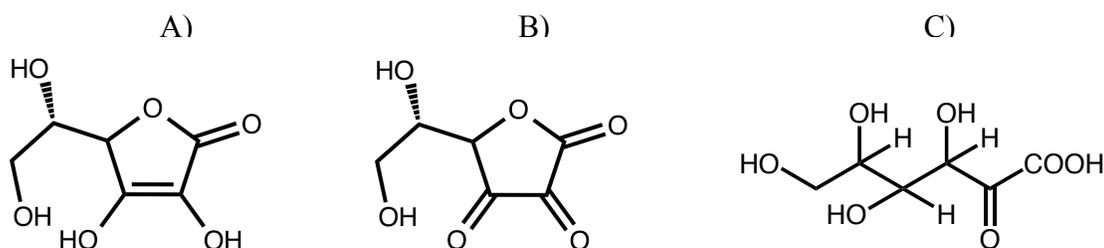


Figura 9. A) Ácido L-ascórbico, B) Ácido L-dehidroascórbico y C) Ácido 2-ceto-L-gulónico.

Esta es una de las vitaminas más abundantes en el mango y su concentración varía con el estado de madurez del fruto, así como con el manejo postcosecha y el método de procesamiento. Ribeiro-Rocha *et al.* (2007) reportaron una concentración de vitamina C de $9.79 \text{ mg} \cdot (100 \text{ g})^{-1}$ para el mango fresco var. Tommy Atkins cultivado en Brazil. Generalmente, esta tiende a disminuir por efectos térmicos, exposición al aire y a la luz (Liu *et al.*, 2014).

Para la cuantificación de la vitamina C se emplean la fluorimetría, cromatografía, métodos electroquímicos y espectrofotométricos. Los métodos espectrofotométricos se basan en medir la cantidad de luz absorbida por las sustancias. Estos métodos se diferencian entre los que usan

indicadores redox y los que incluyen la formación de cromóforos mediante reacciones de derivatización. En este trabajo la cuantificación se realizó por un método espectrofotométrico, empleando la sal DCIP que se reduce en presencia de la vitamina C (Figura 10). A medida que el DCPI es reducido, la coloración azul característica del DCPI disminuye. Este cambio de color se cuantifica a 515 nm (Torregrosa, 2006).

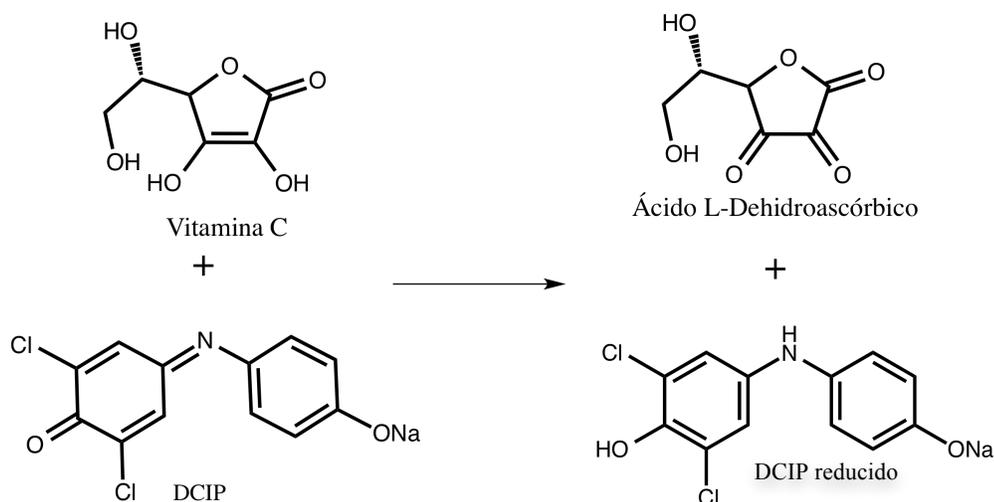
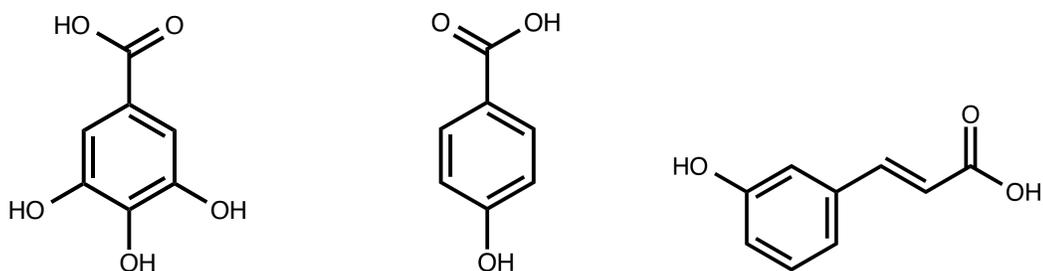


Figura 10. Reducción del DCIP en presencia de la vitamina C.

2.6.2. Compuestos fenólicos. Estos compuestos incluyen ácidos fenólicos, galoilglicósidos, flavonoides como la quercetina y glicósidos de kaempferol, y mangiferina (Schieber *et al.*, 2000; Barreto *et al.*, 2008). En la Figura 11 se presentan los compuestos fenólicos más relevantes presentes en el mango. La actividad antioxidante de estos se rige por el número de grupos hidroxilo: así como su reactividad y su posición en el anillo aromático (Masibo y He, 2008).



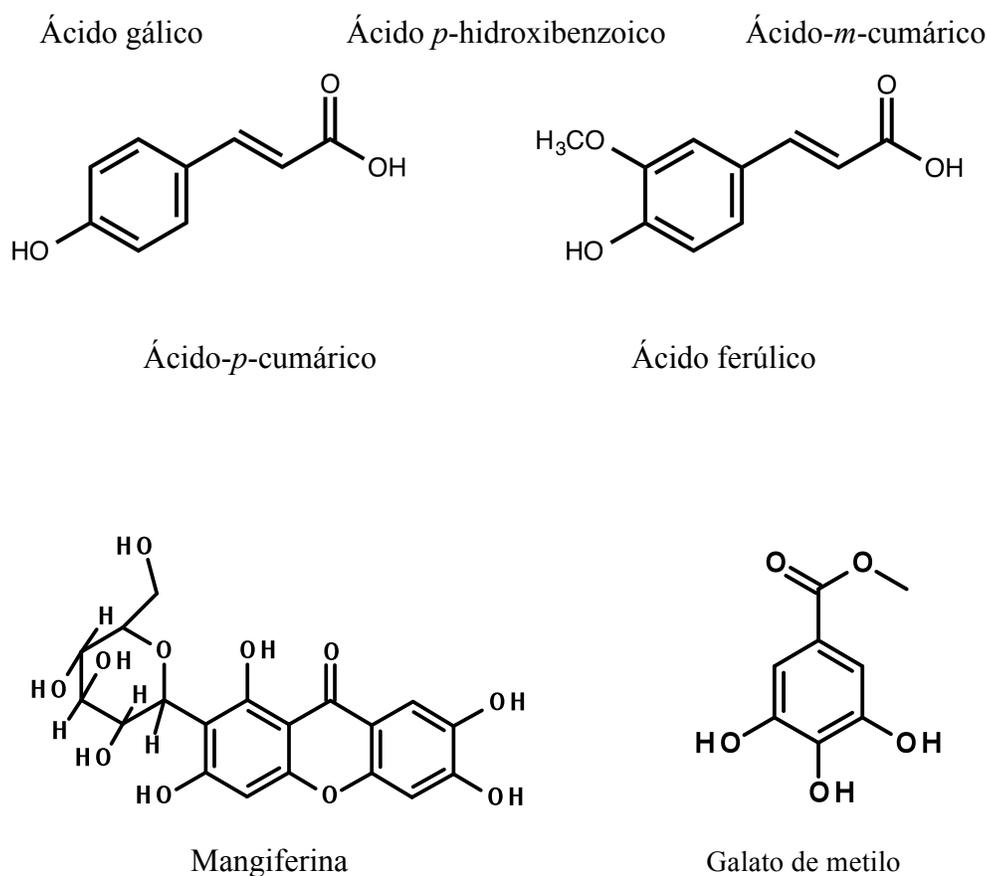


Figura 11. Estructura de algunos compuestos fenólicos presentes en la pulpa de mango.

Entre los compuestos fenólicos de mayor relevancia, por su potencial en la salud humana, se encuentra la mangiferina. Este compuesto es una C-glucosilxantona que se encuentra en algunas variedades de mango, como el Tommy Atkins, Haden y Ubi. El interés en la mangiferina se debe a su amplia gama de propiedades biológicas, debido a que actúa como gastroprotector, analgésico, antibacteriano y citoprotector (Masibo y He. 2008). Así mismo el potencial terapéutico de la mangiferina se ha investigado en la prevención y el tratamiento de la periodontitis (Ferreira *et al.*, 2013). Ribeiro-Rocha *et al.*, 2008 han reportado concentraciones de mangiferina de $2.2 \pm 0.1 \text{ mg} \cdot (\text{kg de pulpa seca})^{-1}$ en el mango var. Tommy Atkins de Brazil. Ahmed *et al.*, 2007 realizaron la cuantificación de mangiferina en una mezcla de semillas de tres variedades de mango (zebda, valadi y succary) provenientes de residuos agroindustriales de una planta productora de jugo de mango y de un mercado en Alejandría, Egipto. Los autores reportaron que los residuos contenían una concentración de

mangiferina de $42 \text{ mg} \cdot (\text{kg de semilla seca})^{-1}$. Otro compuesto fenólico presente en el mango es el galato de metilo, el cual es relevante debido a que es un potente protector contra el estrés oxidativo de las células, reduce la peroxidación lipídica (LPO) y la concentración de especies de oxígeno reactivas (ROS) (Whang *et al.*, 2005). Este compuesto también es útil en el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas, donde el estrés oxidativo está asociado con el proceso de apoptosis celular. Lee *et al.* (2010) reportaron que el galato de metilo es un supresor de células reguladoras T (Treg) en tumores malignos presentes en ratones. Este efecto supresor se debe a que las células Treg están directamente relacionadas con el crecimiento de los tumores. Barreto *et al.* (2008) reportaron una concentración de galato de metilo de $12.68 \text{ mg} \cdot (\text{kg en semilla seca})^{-1}$ en mango var. Van Dyke y $29.20 \text{ mg} \cdot (\text{kg en semilla seca})^{-1}$ en mango var. Embrapa-141-Roxa. El ácido gálico es otro compuesto fenólico de importancia, debido a que es el más abundante en el mango (Kim *et al.*, 2007). La cantidad de ácido gálico en el extracto de semilla de mango varía desde 23 hasta $838 \text{ mg} \cdot (100 \text{ g masa seca})^{-1}$ dependiendo del método de extracción (Soong y Barlow. 2006). También Schieber *et al.* (2000) reportaron una concentración de $6.9 \text{ mg ácido gálico} \cdot (\text{kg de pulpa})^{-1}$. El ácido gálico *in vivo* e *in vitro* presenta actividad antioxidante, antiinflamatoria, antimicrobiana, antimutagénica y anticancerígena (Madsen y Bertelsen 1995).

Otros ácidos fenólicos encontrados en el mango, aunque en pequeñas cantidades, son: ácido cafeico $7.7 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, ácido ferúlico $10.4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ y el ácido cinámico $11.2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (Ahmed *et al.*, 2007).

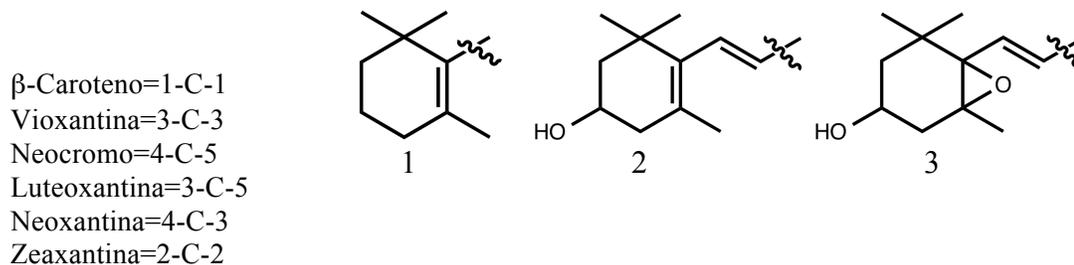
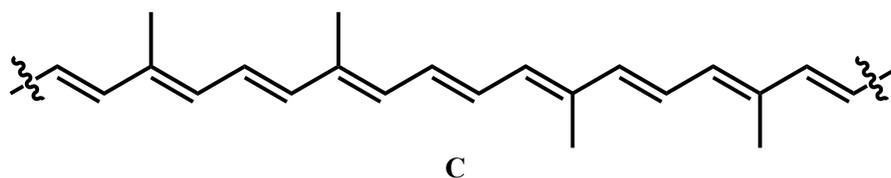
Con respecto a la concentración de fenoles totales, Manthey y Perkins-Veazie (2009) reportaron un intervalo de concentraciones de fenoles totales para la pulpa de mango de $20.1\text{-}30.1 \text{ mg EAG} \cdot (100 \text{ g de mango fresco})^{-1}$ para la variedad Tommy Atkins originaria de México. Los fenoles son importantes debido a que poseen propiedades funcionales y son indicadores de la calidad del mango ya que le confieren un sabor astringente característico.

Los factores que afectan la cuantificación de fenoles son los mismos que afectan a la vitamina C. Para la determinación de compuestos fenólicos se pueden usar técnicas cromatográficas y los métodos espectrofotométricos. En los métodos espectrofotométricos está el ensayo de Folin-Ciocalteu para la cuantificación de fenoles totales. Ésta técnica es la más utilizada para determinar de manera cuantitativa a los fenoles. La prueba consiste en mezclar tungstato y

molibdato de sodio en un medio básico, los cuales reaccionan con cualquier tipo de fenol, formando óxidos de molibdeno (Mo_8O_{23}) y tungsteno (W_8O_{23}). Éstos compuestos son cromogénicos y la intensidad del color que producen es proporcional al número de grupos hidroxilo presentes en los compuestos fenólicos. Consecuentemente, los compuestos fenólicos se pueden cuantificar por espectroscopía de UV/vis a una longitud de onda de 750 nm (Martínez-Valverde *et al.*, 2000).

Para la cuantificación y separación de los compuesto fenólicos, la cromatográfica en HPLC (Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia) es uno de los métodos ampliamente usados para la cuantificación y separación de gran alcance, capaz de resolver mezclas con un gran número de analitos similares, basándose en diferentes tipos de interacciones químicas entre las sustancias analizadas y la columna cromatográfica (Meyer. 2004).

2.6.3. Carotenoides. Los tipos de carotenoides presentes en el mango son cíclicos, hidroxicarotenoides y epoxicarotenoides (Rodríguez-Amaya, 2001). Estos constituyentes son importantes por ser pigmentos que confieren el color característico del fruto y por su valor nutricional así como funcional. Los carotenoides más abundantes identificados en el mango son el β -caroteno, vioxantina, neocromo, luteoxantina, neoxantina y zeaxantina, Figura 12 (Ajila *et al.*, 2010). Cabe hacer mención que el contenido de β -caroteno se utiliza con frecuencia como un indicativo de la magnitud de los daños en el mango durante su procesamiento y almacenamiento (Tharanathan *et al.*, 2006).



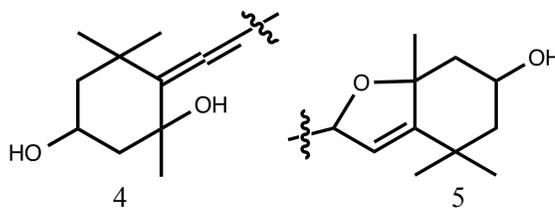


Figura 12. Estructura de los carotenoides presentes en la pulpa de mango (Egeland *et al.*, 1995).

Manthey y Perkins-Veazie (2009) reportaron una concentración de 3.85-6.92 mg de carotenoides•(kg de mango fresco)⁻¹, de la variedad Tommy Atkins originaria de México. La degradación de los carotenoides puede atribuirse a diversas causas, tales como la exposición prolongada al aire, temperaturas altas, reactividad de iones metálicos (cobre y el hierro), degradación de antioxidantes hidrofílicos y oxidación de lípidos presentes en el alimento y del estado físico de los carotenoides. Así mismo la degradación depende de la severidad de los tratamiento térmico dado que el calentamiento promueve la isomerización *trans-cis* de los carotenoides (Rodríguez-Amaya, 2001). La determinación de los carotenoides en alimentos se lleva cabo a través de métodos cromatográficos y espectrofotométricos (Wrosta *et al.*, 2005).

3. ORIGINALIDAD

El deshidratado de rebanadas de mango mediante el uso de aire caliente, produce la degradación de sus compuestos antioxidantes y el cambio de color. Para reducir estos efectos en este proyecto se propuso usar la combinación de sulfitos con extracto de semilla de mango rico en compuestos fenólicos como pretratamiento en el deshidratado, en un secador de charolas giratorias construido en la Universidad Tecnológica de la Mixteca. Esto con el objetivo de minimizar la pérdida de compuestos antioxidantes y color en las rebanadas deshidratadas. También se reporta la cuantificación de seis compuestos fenólicos, entre estos la mangiferina y galato de metilo en las rebanadas pretratadas y deshidratadas.

4. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Obtener rebanadas de mango deshidratadas en un secador de charolas giratorias con una retención significativa del color y compuestos antioxidantes respecto al control (rebanadas de mango sin pretratamiento) mediante el uso de pretratamientos de sulfitos y extracto de semilla de mango.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Obtener el extracto acuoso de la semilla de mango.
2. Obtener rebanadas de mango pretratadas y deshidratadas.
3. Determinar los parámetros termodinámicos (constantes de velocidad de secado y D_{eff}) en los procesos de deshidratado de las rebanadas de mango.
4. Cuantificar los principios antioxidantes en el producto deshidratado y mango fresco; así como la concentración de los sulfitos en las rebanadas deshidratadas.
5. Determinar el efecto de los pretratamientos sobre el contenido de algunos compuestos antioxidantes en las rebanadas de mango deshidratadas.

5. METAS

Obj 1.

1.1. Obtener las propiedades físicas y químicas del fruto y las semillas de mango Tommy Atkins.

1.2. Obtener el extracto acuoso de semilla de mango, así como su actividad antioxidante.

Obj 2.

2.1. Obtener frutos de mango en un estado de madurez 5.

2.2. Obtener rebanadas de mango y realizar los pretratamientos correspondientes.

2.3. Realizar el deshidratado de las rebanadas de mango.

Obj 3.

3.1. Obtener las curvas de secado del proceso de deshidratación de las rebanadas de mango para cada pretratamiento de muestras.

Obj 4.

4.1. Obtener las concentraciones de vitamina C, fenoles totales, β -caroteno y sulfitos en las muestras de mango fresco y deshidratado.

4.2. Obtener las concentraciones de galato de metilo, mangiferina, ácido cafeico, ácido ferúlico, ácido *p*-cumárico y ácido gálico en las rebanadas deshidratadas.

Obj 5.

5.1. Realizar un análisis comparativo de medias, utilizando la prueba de Duncan, para evaluar el efecto de los pretratamientos sobre el contenido de compuestos antioxidantes en las muestras deshidratadas.

6. METODOLOGÍA

6.1. OBTENCIÓN Y PREPARACIÓN DEL MANGO

El objeto del presente estudio fue el mango (*Mangifera indica L.*) var. Tommy Atkins en una etapa de madurez 5 (Apéndice 11.4a y Anexo 12.2), adquirido en el mercado Porfirio Díaz de la Ciudad de Huajuapán de León, Oaxaca. Los frutos maduros se seleccionaron a partir de la apreciación del color de la cáscara y de la firmeza del fruto a través del tacto (Crisoto, 1994), descartando aquellos frutos que presentaron daños físicos, tales como magulladuras, raspones y enfermedades. El mango se escaldó con agua en ebullición por 1 min (Apéndice 11.4b), para inactivar enzimas y mejorar el color; después de lo cual se mantuvo en refrigeración a 4°C para su posterior uso (Nieto *et al.*, 2001). Las rebanadas de mango se obtuvieron con un rebanador doméstico con un espesor de 3.4 ± 0.2 mm (Apéndice 11.4c).

6.2. PROPIEDADES FÍSICAS Y QUÍMICAS DE LA SEMILLA Y LA PULPA DE MANGO

El estudio de las propiedades físicas y químicas del mango fresco consistió en la determinación de la humedad, peso, longitud, °Brix, acidez titulable y pH:

(a) Contenido de sólidos solubles (AOAC 932.12). De la pulpa de mango se tomó una gota de su jugo y se colocó en el refractómetro Abbe. El valor del ajuste es el que se reportó en los resultados expresados en °Brix.

(b) Porcentaje de humedad (Filimon 2011). Se pesaron 3 g de pulpa de mango en crisoles previamente tarados y secados. Posteriormente las muestras se colocaron en una estufa a una temperatura de 105°C por 24 h. Pasado este tiempo estas se llevaron a un desecador por 30

min para su enfriamiento bajo condiciones anhidras y se pesaron. El cálculo de la humedad se realizó con la siguiente Ecuación.

$$\%Humedad = \frac{W1 - W2}{W} * 100 \quad (9)$$

Donde:

W1= Peso del crisol más muestra humeda

W2= Peso del crisol más muestra seca

W=Peso de la muestra

(c) Acidez titulable (NMX-F-102-S-1978). La pulpa de mango se licuó durante 2 min para homogenizar la muestra y se filtró con un paño de manta de cielo. Para la titulación de la muestra se utilizó un potenciómetro (METER) que previamente se calibró con soluciones estándares de pH 4 y 7. Para la titulación se utilizaron 10 g de la pulpa de mango licuada, a la cual se le determinó constantemente el pH durante la adición de una solución de NaOH 0.1 N hasta alcanzar un pH 8.3. La acidez se calculó mediante la siguiente Ecuación.

$$\%Acidez = \frac{N * V * Meq}{P} * 100 \quad (10)$$

Donde:

N = Normalidad del NaOH

V = Volumen de NaOH usado para titular (mL)

Meq = Milimolequivalente de ácido cítrico (0.006404 g de ácido cítrico anhidro)

P = Peso de la muestra (g)

(d) Determinación de pH (NMX-F-102-S-1978). El pH de la muestra se obtuvo de la lectura directa del potenciómetro.

6.3. OBTENCIÓN DEL EXTRACTO DE SEMILLA

Se retiró la cáscara y la pulpa de la fruta de mango con un cuchillo. Después, la semilla obtenida (Apéndice 11.4d) se cortó en trozos pequeños; éstos se molieron en una licuadora durante 2 min y se tamizaron a través de una malla #40, obteniéndose un polvo. Posteriormente, se pesaron 25 g de semilla tamizada y se mezclaron con 500 mL de metanol y se sometieron a una sonicación durante 30 min a temperatura ambiente. La mezcla se

sedimentó hasta observar una separación de fases. El sobrenadante se decantó y filtró en papel filtro Whatman # 1. El material sedimentado se volvió a pasar por el mismo proceso de extracción (tres veces). Al final, los filtrados se recolectaron, combinaron y evaporaron en un rotavapor a 40°C, obteniéndose 11 g de extracto color café rojizo libre de disolvente. Este extracto se disolvió en agua hasta llevarlo a un volumen final de 100 mL en un matraz volumétrico. Finalmente, la solución de extracto se almacenó a -20°C para su preservación y posterior uso.

A continuación se presenta el cálculo del rendimiento de la extracción.

Se obtuvo utilizando el peso del polvo de semilla de mango usado para la extracción y el peso del extracto final libre de disolvente, como se presenta en la siguiente ecuación.

$$\text{Rendimiento (\%)} = \frac{\text{Peso de extracto}}{\text{Peso del polvo de semilla}} * 100 \quad (11)$$

6.4. DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIRRADICALAR DE LOS EXTRACTOS DE SEMILLA DE MANGO

La determinación de la actividad antirradicalar se llevó a cabo de acuerdo al procedimiento reportado por Julián-Loeza *et al.* (2011). A continuación se describe la preparación de las soluciones y el procedimiento utilizado para la obtención del EC₅₀.

Preparación de soluciones

Solución de DPPH• al 0.004% (p/v). Se disolvieron 10 mg de DPPH• en 10 mL de MeOH en ausencia de la luz.

Soluciones de estándares de ácido gálico de 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 y 2.5 ppm. A partir de una solución patrón de 100 ppm de ácido gálico (1 mg de ácido gálico llevado a un volumen final de 10 mL con EtOH al 90%) se obtuvieron las soluciones de estándares antes mencionadas.

Soluciones de extractos. A partir del extracto concentrado de semilla de mango al 11% (p/v) se prepararon soluciones a concentraciones de 0.5, 1, 5, 10, 15 y 20 ppm. Estas soluciones se

hicieron reaccionar con el radical DPPH, (Apéndice 11.5). Para determinar la concentración de extracto a la que se inhibe el radical DPPH en un 50% (Apéndice 11.6).

Ensayo de la capacidad antioxidante por el método del DPPH[•].

El valor EC₅₀, corresponde a la cantidad de muestra requerida para reducir al 50% del DPPH[•]. Este valor se reportó en gramos de muestra•(kg de DPPH[•])⁻¹.

En una placa de 96 pozos se colocaron las soluciones de extractos, blancos y estándares. Éstos se mezclaron con DPPH[•] o metanol según la mezcla requerida como se presenta la Tabla 7.

Tabla 7. Mediciones de las absorbancias de DPPH[•].

Medición de la absorbancia	Procedimiento
Extractos (SLP) ó estándares (STD)	70 µL del extracto o del estándar se mezclaron con 70 µL de DPPH [•] al 0.004%
Blanco del extracto (BLK SLP) o del estandar (BLK STD)	70 µL del extracto o del estándar se mezclaron con 70 µL de MeOH
Control	70 µL del DPPH [•] al 0.004% se mezclaron con 70 µL de MeOH
Blanco del control (BLKcontrol)	140 µL de MeOH.

Después de mezclar las soluciones en la placa, ésta se colocó en el lector de microplacas durante 30 min en reposo a temperatura ambiente en ausencia de luz. Posteriormente, la placa se agitó durante 15 s y se realizó la lectura a una absorbancia de 515 nm

La actividad antirradical se expresó de acuerdo a la siguiente ecuación.

$$\%inhibición = \left(\frac{A_{control} - A_{extracto}}{A_{control}} \right) * 100 \quad (12)$$

Donde :

A_{control} = Control- BLKcontrol

A_{extracto} = SLP - BLK SLP

Con los datos obtenidos del % de inhibición del estándar a las concentraciones mencionadas anteriormente, se realizó una gráfica (Apéndice 11.6) para determinar el valor EC₅₀ del estandar. El procedimeitno anterior también se realizó con los datos de % de inhibición para los extractos, obteniendo la concentracion de extracto a la que se inhibe al DPPH[•] en un 50% .

Cinética de eficiencia antirradical (Sanchez-Moreno *et al.*, 1998).

La cinética se determinó usando el extracto a la concentración del EC₅₀. Se realizó una lectura de absorbancia a intervalos de 30 s durante 100 min. Posteriormente se calcularon los valores del % de DPPH' de inhibición y de manera subsecuente se calculó el % de DPPH' remanente = 100 - % inhibición. Los valores del % de remanente se graficaron contra el tiempo de reacción para determinar el tiempo del inicio del estado estable. A ese punto se le denominó T_{EC50}. Para verificar la precisión del valor de T_{EC50} se usó la primera derivada ($\Delta\%rem \cdot \Delta t^{-1}$) y el tiempo (t) (Harris, 2007; Apéndice 11.7)

Con los valores de EC₅₀ y T_{EC50} se calcularon los valores de la eficiencia antirradicalar (EA) como se muestra en la Ecuación 13, expresada como kg de DPPH'/(g de antioxidante·min).

$$EA = \frac{1}{EC_{50} * T_{EC50}} \quad (13)$$

6.5. PRETRATAMIENTO DE LAS REBANADAS DE MANGO

El pretratamiento con metabisulfito de sodio al 0.5% (PT1), se preparó con 0.5g de Na₂S₂O₅ y 100 mL de agua. El pretratamiento con extracto (PT2), se preparó a una concentración 10 veces mayor de fenoles totales en el extracto, que la presente en el mango fresco con la finalidad de asegurar la difusión de los fenoles totales desde el extracto hacía las rebanadas. Para saber la concentración necesaria que equivaldría 10 veces mayor la cantidad fenoles en el extracto, se utilizó la siguiente relación: 30 ppm de extracto acuoso contienen 5.8 ppm de fenoles totales EAG y que la pulpa de mango fresco contiene 277 ppm de fenoles totales (Jiménez-Durán y Salas-Coronado, 2012). Realizando los cálculos pertinentes se obtiene que se necesita 14327.58 ppm de extracto acuoso para obtener 2770 ppm de fenoles totales EAG. Por lo tanto el extracto se preparó a una concentración de 1.44% (PT2). El pretratamiento con metabisulfito de sodio al 0.5% + extracto de semilla de mango al 1.44% (PT3), se preparó con 50 mL de extracto al 2.88% y 50 mL de metabisulfito de sodio al 1%. Para realizar los

pretratamientos, se sumergieron las rebanadas de mango de 3.4 ± 0.2 mm de espesor en las soluciones durante 3 min a temperatura ambiente y posteriormente la solución se drenó durante 1 min (Apéndice 11.8). En la Tabla 8 se presenta la simbología usada para cada pretratamiento.

Tabla 8. Pretratamientos para las rebanadas de mango.

Símbolo	Tratamiento
Control	Control (Rebanada sin pretratamiento)
PT1	Na ₂ S ₂ O ₅ al 0.5%
PT2	Extracto de semilla de mango al 1.44%
PT3	Extracto de semilla de mango al 1.44% y Na ₂ S ₂ O ₅ al 0.5%

6.5. OBTENCIÓN DE CURVAS DE SECADO, DIFUSIVIDADES EFECTIVAS Y CONSTANTES DE VELOCIDAD DE SECADO

Las rebanadas de mango (control y pretratadas) se deshidrataron a una temperatura de 60°C, velocidad de aire de $1.2 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$ y con rotación de charolas a 20 rpm. La pérdida de humedad se determinó en una balanza analítica (BL 210S, Sartorius), realizando mediciones de masa cada 15 min, hasta que se obtuvo un contenido de humedad final en el producto de aproximadamente 15%.

Para obtener la curva de secado, se usó el siguiente procedimiento. Con los datos obtenidos de la pérdida de humedad, se calculó el valor de la humedad al tiempo t con la ecuación 14.

$$MR_t = \frac{W - W_s}{W_s} \quad (14)$$

Después de establecer las condiciones constante de secado y el contenido de humedad en equilibrio a 60°C, se procede a calcular la razón de humedad MR, con la siguiente ecuación como se menciona en la Sección 2.4. del “Análisis de Fundamentos”:

$$MR = \frac{MR_t - MR^*}{MR_0 - MR^*} \quad (15)$$

Donde:

MR = Razón de humedad; kg de agua libre•(kg de sólido seco)⁻¹.

MR* = Razón de humedad en equilibrio; kg de agua en equilibrio•(kg de sólido seco)⁻¹.

Siendo MR* el mínimo contenido de humedad en la cual un alimento puede teóricamente ser secado; debido a que su valor generalmente es muy pequeño puede ser despreciable según Sacilik et al., 2006. Finalmente se grafican los valores de MR (kg de agua libre•(kg de sólido seco)⁻¹) vs tiempo *t* (h), para obtener las respectivas curvas de secado. Para obtener la curva de velocidad de secado, se miden las pendientes de las tangentes a la curva MR vs *t*, lo cual proporciona valores dx/dt para ciertos valores de *t*.

$$R = -\frac{L_s}{A} \frac{dx}{dt} \quad (16)$$

Donde:

L_s= masa de la muestra

A= area superficial expuesta al secado

Las curvas de secado, se utilizaron para calcular los parámetros termodinámicos de secado, la difusividad efectiva (*D_{eff}*) y la constante de velocidad de secado (*k*). La *D_{eff}* y *k* se calcularon a partir de las Ecuaciones 6 y 9, respectivamente, descritas en la Sección 2.4. del “Análisis de Fundamentos”. Los valores de *k* se obtuvieron a partir de una regresión no lineal utilizando del paquete computacional InterRegTM.

6.6. DETERMINACIÓN DE COLOR

Para determinar el color de las muestras de mango se utilizó un colorímetro Ultra Scan VIS HunterLab. Se empleó el iluminante D65, con un ángulo de observación de 10° y con un diámetro de observación de 0.9525 cm. Para cada determinación se utilizaron tres rebanadas de mango. A cada rebanada se le midieron los valores de *L**, *a** y *b** en 10 puntos distintos y

se reportó el valor del color promedio. El parámetro b^* representa el color amarillo que es característico de la pulpa de mango (Quevedo y Pérez-Bello, 2006).

6.7. CUANTIFICACIÓN DE FENOLES TOTALES

Proceso de extracción. Se pesaron muestras de 1 g de pulpa de mango fresco y 0.05 g para los deshidratados, las muestras se mezclaron con 5 y 2 mL de EtOH/ H₂O 60:40 (v/v) respectivamente, en un vortex por 5 min. Posteriormente las mezclas se llevaron a sonicación por 30 min a temperatura ambiente y se centrifugaron por 15 min a 1000 rpm, se filtraron usando papel Whatman # 1. Los extractos se obtuvieron por triplicado.

Ensayo de fenoles totales. La cuantificación de fenoles totales se realizó en un lector de microplacas Biotek ELX-808, modificando el método colorimétrico de Folin-Ciocalteu, descrito por Dewanto *et al.* (2002). Se colocaron por triplicado 40 μ L de extracto o del estándar en una microplaca con 40 μ L de reactivo de Folin-Ciocalteu al 0.1 M. Posteriormente se dejó en reposo durante 3 min en el lector de microplacas, y la mezcla se agitó durante 15 s a baja velocidad. Después de esto, se adicionaron 40 μ L de Na₂CO₃ al 0.5%. La muestra se dejó reposar durante 30 min a 40°C, y después de éste tiempo se agitó 1 min a velocidad media en el lector de microplacas. La absorbancia se leyó a 750 nm. La curva de calibración se preparó utilizando un patrón de ácido gálico (100 μ g•mL⁻¹) como referencia con concentraciones de 5, 10, 15, 20 y 25 ppm. La curva de calibración se presenta en el Apéndice 11.9. El contenido de fenoles totales en las muestras de extracto de mango se determinó usando la curva de calibración, y se expresó en miligramos equivalentes de ácido gálico (EAG)•(100 g de masa seca)⁻¹.

6.8. CUANTIFICACIÓN DE VITAMINA C

La vitamina C se cuantificó de acuerdo al método descrito por Dürüst *et al.* (1997) adaptado a un lector de microplacas. Este método consiste en medir la cantidad del dicloroindofenolato de sodio (DCIP) remanente después de su exposición a la reacción de reducción provocada por la vitamina C.

Preparación de soluciones

Solución extractora. Se disolvieron 2 g de ácido metafosfórico con una pureza del 96% en 200 mL de agua destilada.

Solución stock (100 ppm). Se aforaron 0.05 g de vitamina C con la solución extractora en un matraz de 100 mL. De éste se tomaron 2 mL (500 ppm) y se aforó en un matraz de 10 mL con la solución extractora.

DCIP (30 ppm). Primero se preparó una solución de 600 ppm de DCIP a partir de 6 mg de DCIP llevado a un volumen de 10 mL con agua destilada. Para obtener DCIP a 30 ppm, se tomaron 500 µL de DCIP a 600 ppm y se llevó a un volumen de 10 mL con agua destilada.

Buffer de acetato. Se pesaron 4.5 g de acetato de sodio con una pureza del 97.7% y se agregaron 10.5 mL de agua destilada y 15 mL de ácido acético con una pureza del 99.8%.

Reacciones para la medición de vitamina C

En una placa de 96 pozos se colocaron las soluciones de los blancos, estándares y extractos, éstos se mezclaron con buffer de acetato, DCIP y agua según la mezcla requerida como se presenta en el Apéndice 11.10. Después de mezclar uniformemente la placa se colocó en el lector de microplacas (Biotec LX-808) y se dejó en reposo durante 1 min a temperatura ambiente en ausencia de luz. Posteriormente se agitó durante 15 s y se realizó la lectura a una absorbancia a 515 nm. Para calcular la concentración de vitamina C en las muestras, se llevaron a cabo los cálculos siguientes (extractos=SLP, estándares=STD, blanco del extracto=BLK SLP, blanco del DCIP=BLK DCIP).

$$L_2 (\text{STD}) = \text{STD} - \text{BLK STD}$$

$$L_2 (\text{SLP}) = \text{SLP} - \text{BLK SLP}$$

$$L_1 (\text{DCIP}) = \text{DCIP} - \text{BLK DCIP}$$

Para calcular:

$$L_1 - L_2 (\text{STD}) = \text{Absorbancia del estándar.}$$

$$L_1 - L_2 (\text{SLP}) = \text{Absorbancia de la muestra.}$$

La concentración de vitamina C en las muestras se determinó sustituyendo el valor de L_1 - L_2 (SLP) en la curva de calibración del estándar de ácido gálico (Apéndice 11.11) para obtener la concentración de la muestra.

6.9. CUANTIFICACIÓN DE CAROTENOS TOTALES

Para la cuantificación de carotenos se utilizó el método modificado descrito por Wrosted *et al.* (2005).

Se pesó y molió en un mortero 1 g de mango fresco ó 0.3 g de mango deshidratado con 2 ó 3 mL de agua, respectivamente. La mezcla obtenida de cada una de las muestras se colocó en un frasco ámbar. Se adicionaron 4 ó 6 mL de etanol al 95%, respectivamente. La mezcla se agitaron en vortex durante 4 min. La mezcla se filtró al vacío sobre papel filtro Whatman # 1. El filtrado se lavó con etanol dos veces hasta que la solución se observó cristalina. Posteriormente el líquido de cada muestra se vertió en un embudo de separación de 25 mL y se le agregaron 10 mL de hexano al 98.5% con agitación. Finalmente la muestra se dejó reposar durante 2 min, después de lo cual se retiró la fase etanólica. La fase hexánica se aforó en un matraz de 10 mL para después leer su absorbancia en un espectrofotómetro UV/Vis a 450 nm. Las determinaciones se realizaron por triplicado.

Para calcular la concentración de carotenos totales, se utilizó la absorptividad molar del β -caroteno ($\epsilon=139 \text{ mM}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$) y la siguiente ecuación (Apéndice 11.12).

$$[\text{Carotenos}] = \frac{\left(\frac{A_{450}}{258.84 \frac{\text{mL}}{\text{mg}}} * \text{Vol}_{\text{disolución}} \right)}{100 \text{ g}_{\text{muestra}}} * 100 \quad (17)$$

Donde:

A_{450} = Absorbancia de la muestra a 450 nm.

$\text{Vol}_{\text{disolución}}$ = Volumen de aforado del extracto hexánico.

6.10. DETERMINACIÓN DE SULFITOS

Para la determinación de los sulfitos, se utilizó el método implementado para un lector de microplacas (Anexo 12.4).

Preparación de soluciones

Solución de sal disódica de EDTA a 0.1 mM. Se pesó 0.0372 g de EDTA en un matraz aforado de 100 mL y se adicionó agua desionizada, degasificada (15 min) hasta el aforo.

Solución de buffer Tris a pH =8. Se pesó 0.1 g del reactivo Tris en un matraz aforado de 100 mL y se adicionó agua desionizada, degasificada (15 min) hasta el aforo.

Solución de stock de sulfitos a 1000 ppm. Se pesó 0.05 g de metabisulfito de sodio en un matraz aforado de 50 mL y se adicionó solución de EDTA hasta el aforo.

Solución de DTNB 3×10^{-4} M. Se pesó 0.012 g de DTNB en un matraz aforado de 100 mL y se adicionó solución de buffer Tris hasta el aforo.

En la Tabla 9, se presentan las concentraciones que se usaron para generar la curva de calibración de sulfitos.

Tabla 9. Datos para generar la curva de calibración para sulfitos (Apéndice 11.13).

Concentración (ppm)	Sol. stock de sulfito (μ L)	Sol. EDTA (mL)
20.00	200	9.800
13.28	133	9.867
10.00	100	9.900
8.00	80	9.920
6.64	67	9.933

Preparación de la muestra

Se pesó 0.02 g de muestra deshidratada molida en mortero. Posteriormente se agregó 1 mL de EDTA, y se mezcló en vortex durante 2 min y se sonicó por 15 min. Finalmente, la solución se centrifugó por 5 min. Éste extracto se utilizó para preparar las mezclas de las reacciones.

Preparación de las mezclas de reacción

En una placa de 96 pozos se colocaron las soluciones de los blancos, estándares y extractos, éstos se mezclaron con DTNB, Tris y EDTA según la mezcla requerida como se presenta en el

Apéndice 11.14. Después de mezclar las soluciones en la placa, ésta se colocó en el lector de microplacas durante 5 min a temperatura ambiente, la placa se agitó durante 30 s y se realizó la lectura de absorbancia a 405 nm. Se tuvo cuidado con la temperatura de las reacciones y las corrientes de aire, ya que la presencia de oxígeno favorece la degradación de los sulfitos. Para obtener la absorbancia de los sulfitos se utilizó la siguiente Ecuación (extractos=SLP, blanco del extracto=BLK SLP, blanco del DTNB=BLK DTNB).

$$A_{\text{sulfitos}} = \text{SLP} - (\text{BLK DTNB} + \text{BLK SLP}) \quad (18)$$

Las concentraciones de sulfitos en las rebanadas de mango deshidratadas, se calcularon sustituyendo las absorbancias de las muestras en la curva de calibración para sulfitos (Apéndice 11.13). Las determinaciones se realizaron por triplicado.

6.11. IDENTIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS INDIVIDUALES

Para la determinación de los compuestos fenólicos individuales se utilizó una modificación de lo descrito por Ruiz-Montañez *et al.* (2014), Ribeiro *et al.* (2008) y Barreto *et al.* (2008) utilizando la Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia (HPLC).

Obtención de extractos del mango deshidratado

Se pesaron 0.2 g de cada muestra deshidratada. La muestra se mezcló con 2.5 mL de una solución de MeOH/H₂O al 70 % con 0.1% de CH₃COOH en vortex por 5 min. A continuación, las muestras se llevaron a sonicación por 10 min a temperatura ambiente, seguido de la centrifugaron por 10 min a 1000 rpm, después se recolectó el sobrenadante y el residuo se volvió a extraer por segunda vez. Finalmente se recolectaron los sobrenadantes y se evaporaron a 40°C hasta sequedad. Los extractos se obtuvieron por triplicado.

Proceso de purificación de los extracto del mango deshidratado

La purificación de los extractos fenólicos para la determinación de los compuestos fenólicos, se utilizaron cartuchos C18 de 2.8 mL cat. No. 255300 (Alltech). Primero se realizó un

acondicionamiento con 1 mL de agua grado HPLC. Posteriormente se colocó la muestra disuelta en 500 μL de agua. Después se le adicionaron 500 μL de agua y se recolectó la fracción en viales ámbar. Posteriormente se agregó 1 mL de MeOH/H₂O 1:1 (v/v) y se colectó la fracción en viales. Finalmente, el cartucho se eluyó con 1 mL de MeOH. Se recolectaron todas las fracciones y se analizaron en el equipo de HPLC.

Proceso de cuantificación de los compuestos fenólicos

Los compuestos fueron cuantificados usando las curvas de calibración de mangiferina, galato de metilo, ácido ferúlico, ácido gálico, ácido cafeico, ácido *p*-cumárico (Apéndice 11.15-11.20). Se utilizó un HPLC Alliance Water 2695 con detector de arreglo de fotodiodos y una columna C18, de 250 x 4.6 mm y 5 μm de diámetro interno (Phenomenex). Se utilizó un volumen de inyección de 10 μL y un flujo de elución de 1 mL $\cdot\text{min}^{-1}$. La fase móvil usada fue A: solución de 0.1% de ácido fórmico en agua, B: solución de 0.1% de ácido fórmico en acetonitrilo. La fase móvil fue aplicada en un programa de gradiente como sigue: 0 min 10% B, 5 min 10% B, 15 min 80% B and 30 min 100% B, 35 min 10% B. Las longitudes de onda de UV usadas fueron de 365 nm para mangiferina y 280 nm para el resto de los analitos (Ruiz-Montañez *et al.*, 2014; Ribeiro *et al.*, 2008 y Barreto *et al.*, 2008).

6.12. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para el análisis estadístico se llevó a cabo un diseño comparativo simple. También se realizó análisis de varianza (ANOVA) y de comparación de medias por el método de rangos múltiples de Duncan con un nivel de significancia $\alpha = 0.05$ entre los tratamientos y las variables, con el apoyo del programa Desing-Expert® 6.0. Finalmente se realizó una correlación de todas las variables por el método de Pearson (Montgomery 1991).

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la siguiente sección se presentan los resultados y discusión obtenidos durante el desarrollo experimental de acuerdo a la metodología planteada en este proyecto.

7.1. PROPIEDADES FÍSICAS Y QUÍMICAS DE LA SEMILLA Y PULPA DE MANGO

7.1.1. Propiedades físicas y químicas de la semilla de mango. Las semillas de mango Tommy Atkins utilizadas para realizar el estudio presentaron una humedad de $37.68 \pm 0.31\%$, un peso promedio de 24.63 ± 7.50 g y una longitud de 6.49 ± 0.51 cm. Las propiedades químicas estudiadas para el extracto de la semilla de mango fueron el contenido total de compuestos fenólicos, la actividad antirradicalar y la eficiencia antirradicalar.

La concentración de fenoles totales de las semillas frescas de mango Tommy Atkins fue de $23,900 \pm 2$ mg EAG•(100 g de extracto)⁻¹. Este contenido es 19.3% superior al valor descrito por Sogi *et al.* (2013), quienes reportaron un intervalo de 11,228-20,035 mg EAG•(100 g de extracto)⁻¹ para semillas de mango Tommy Atkins deshidratadas al vacío, en bandeja, liofilizadas y por infrarrojo. Por otro lado la cantidad de fenoles totales, expresada en función de la cantidad de semilla fresca es de 230 ± 0.08 mg EAG•(100 g de semilla fresca)⁻¹. Este valor es 133.0% superior al reportado por Kittiphoom y Sutasinee, (2013) quienes encontraron una concentración de 98.7 mg EAG•(100 g de semilla fresca)⁻¹ para las semillas de mangos Tailandeses.

Consecuentemente, se puede afirmar que las muestras de mango utilizadas en el presente trabajo presentaron un contenido alto de fenoles, quizá se deba a la variedad, el origen y calidad del mango (Manthey y Perkins-Veazie, 2009). También probablemente el uso de

ultrasonido para asistir la extracción de fenoles a partir de semillas de mango favoreció la obtención de rendimientos altos en un tiempo corto de extracción (30 min). El rendimiento del extracto es de $12.18 \pm 0.29\%$ se ubica en el límite superior del intervalo reportado por Dorta *et al.* (2012), 4.0–12.0%. Estos autores reportaron una extracción de semilla de mango var. Keitt asistida por ultrasonido durante 60 min y utilizando como disolvente acetona acuosa al 50%.

La actividad antirradicalar del extracto de semilla de mango EC_{50} fue de $8.95 \pm 0.34 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$. Esto representa una actividad 129.5% mayor a la descrita por Maisuthisakul (2008) para el mango Thai de 11 diferentes cultivares ($13.06 \pm 0.86 - 20.54 \pm 0.14 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$). Cabe hacer mención que entre menor sea el valor del EC_{50} de un extracto, será mayor la actividad antirradicalar frente al DPPH \cdot . En la Figura 13 se presenta la concentración de extracto de semilla de mango necesario para inhibir el 50% de DPPH \cdot .

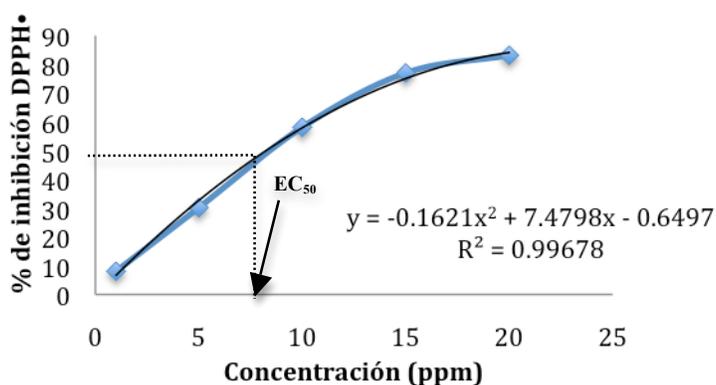


Figura 13. Curva de la concentración del extracto de la semilla de mango versus el % de inhibición del DPPH \cdot para el cálculo del EC_{50} .

El $T_{EC_{50}}$, definido como el tiempo en el cual se inicia el estado estable de la reacción, se obtuvo a partir de la curva generada por la primera derivada de la concentración de extracto/tiempo de reacción *versus* el tiempo de reacción (Figura 14). Se obtuvo un valor de $T_{EC_{50}}$ de 25 min que es equiparable a los $T_{EC_{50}}$ de extractos de frutos liofilizados de fresa 22 ± 2 min, chirimoya 20 ± 2 min y cáscara de capulín 20 ± 2 min (Vasco *et al.*, 2008). El valor del $T_{EC_{50}}$ se utilizó para calcular la eficiencia antirradicalar (EA) del extracto utilizado.

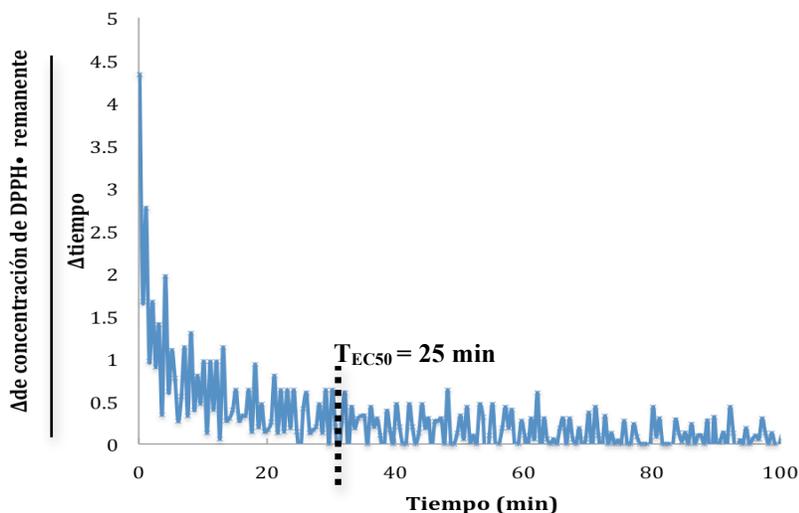


Figura 14. Determinación gráfica del tiempo T_{EC50} para el extracto de semilla de mango usando la primera derivada *versus* tiempo de reacción.

La EA obtenido en este trabajo fué de 1.80×10^{-4} kg de DPPH[•]/g de extracto•min. De acuerdo a la clasificación de la eficiencia antirradicalar propuesta por Sánchez-Moreno *et al.* (1998), el extracto se clasifica como de eficiencia baja (Sección 2.5.2, Tabla 6). Cabe señalar que Gramza *et al.* (2005) reportaron valores similares para la decocción de té verde (EA de 1.3×10^{-4} kg de DPPH[•]/g de extracto de té verde•min y $T_{EC50}=21.25$ min) y la decocción de te negro (EA= 1.7×10^{-4} kg de DPPH[•]/g de extracto de té negro•min y $T_{EC50}=15.25$ min). Estos autores concluyen que sus extractos obtenidos tienen alto potencial antioxidante a pesar presentar una eficiencia antirradicalar baja. Por lo tanto el extracto de semilla de mango presenta también presenta un poder antioxidante alto.

7.1.2. Parámetros de calidad de la pulpa de mango. Los parámetros de calidad que se evaluaron en la pulpa de mango fueron los sólidos solubles expresados en °Brix, la acidez titulable en % de ácido cítrico, el pH y el color expresado como L*, a* y b* (Tabla 9). La cantidad de azúcares solubles y la acidez titulable son parámetros indicadores de calidad del mango que determinan el estado de madurez del fruto. Los valores obtenidos se asemejan a los valores reportados por Siddiq *et al.* (2013) para un mango maduro. Para indicar el estado de madurez del mango se utilizó la escala reportada por Brecht (2010) para mango Tommy Atkins (Anexo 12.2). De acuerdo a esta escala el mango utilizado para realizar el presente

proyecto se encuentra en la Etapa 5 de madurez. Los parámetros de color L* y b* obtenidos (Tabla 10), muestran un grado menor de oscurecimiento (L* 63.56 ± 4.73) y un color amarillo más intenso (b* 57.81 ± 4.22) que el reportado por Ribeiro *et al.* (2008).

Tabla 10. Propiedades físicas y químicas del mango.

Parámetro		Tommy A. Estudiado	Tommy A. Reportado
Peso de unidades de mango (g)		671.46±80.47	-
Sólidos solubles (°Brix)		16.22±1.62	14-16 ^b
Humedad (%)		88.30±1.09	-
pH		3.78±0.15	3.4±0.1 ^a
% acidez		0.47±0.07	0.9±0.0 ^a
Color	L*	63.56±4.73	55.0-61.1 ^b
	a*	11.45±1.95	11.5-14.4 ^b
	b*	57.81±4.22	40.0-50.0 ^b

^aSiddiq *et al.* (2013)

^bRibeiro *et al.* (2008)

7.2. OBTENCIÓN DE CURVAS DE SECADO, DIFUSIVIDADES EFECTIVAS Y CONSTANTES DE VELOCIDAD DE SECADO

7.2.1. Curvas de secado. El secado de las rebanadas de mango se llevaron a cabo en un periodo de 105 min. En la Tabla 11 se presenta el contenido del porcentaje de humedad para las rebanadas que fueron pretratadas a los diferentes tiempos de secado.

Tabla 11. Medida de los porcentajes de las humedades en las rebanadas de mango pretratadas en función del tiempo de secado.

Tiempo de secado (min)	Pretratamientos			
	Control	PT1	PT2	PT3
0	88.3 ^a	89.8 ^b	88.4 ^a	89.0 ^b
15	77.77 ^a	83.39 ^c	75.78 ^a	79.36 ^b
30	64.73 ^{a,b}	69.12 ^c	63.62 ^a	65.64 ^b
45	51.98 ^a	55.90 ^c	51.81 ^a	53.55 ^b
60	41.06 ^a	43.27 ^b	40.69 ^a	42.00 ^b
75	31.36 ^a	31.81 ^a	31.10 ^a	31.86 ^a
90	22.87 ^a	22.69 ^a	23.16 ^b	23.08 ^b
105	14.92 ^{a,b}	14.38 ^a	16.84 ^c	15.64 ^{b,a}

PT1=Mango pretratado con Na₂S₂O₅ al 0.5%, PT2=Mango pretratado con extracto al 1.44%, PT3=Mango pretratado con una mezcla de extracto al 1.44% + Na₂S₂O₅ al 0.5%.

En la Tabla anterior, se observa que del intervalo de tiempo de 0 a 15 min, las rebanadas de mango (PT1 y PT3), no contienen los mismos porcentajes de humedades, probablemente se deba a la ganancia de agua por efecto del proceso de inmersión en los diferentes pretratamientos, así como también al proceso de drenado (Zuluaga *et al.*, 2010). Después de 75 min se observa que no hay diferencia significativa ($\alpha=0.05$) de los porcentajes de humedad entre las rebanadas a los diferentes pretratamientos. Esto significa que a ese tiempo los pretratamientos de las rebanadas no tienen ningún efecto sobre la humedad. A los 105 min, se observa que la muestra PT2 presenta la humedad más alta, eso indica que posiblemente se tenga una mayor dificultad en la difusión del agua debido al pretratamiento (Abano *et al.*, 2013).

Los tiempos de secado obtenidos en el presente trabajo son menores que los reportados por Villa-Corrales *et al.* (2010) para rebanadas de mango Ataulfo de 3 mm de espesor. Los autores realizaron el secado durante 160 min utilizando una temperatura de 60°C y a una velocidad de aire de 0.2 m•s⁻¹. Esta diferencia se puede atribuir a que los autores usaron una velocidad de aire de secado menor y también probablemente a la rotación de las charolas.

A partir de las mediciones de pérdida de humedad cada 15 min, se construyeron las curvas de secado para cada pretratamiento (Figura 15).

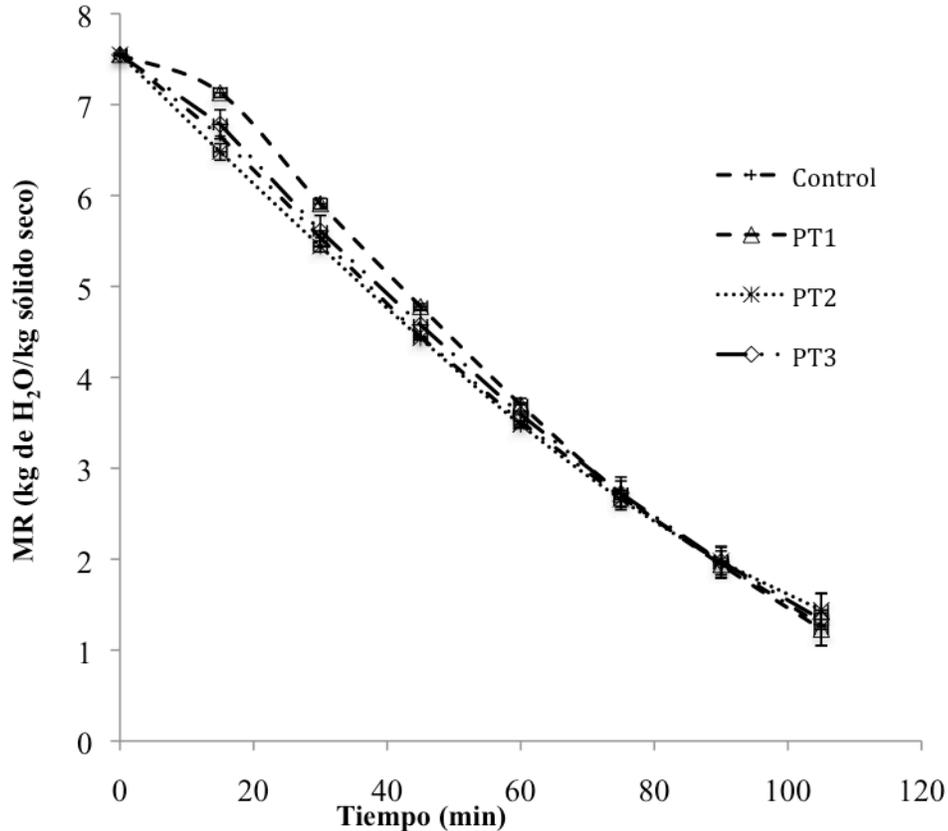


Figura 15. Curvas de secado para el mango deshidratado con diferentes pretratamientos (PT1= Mango pretratado con $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ al 0.5%, PT2= Mango pretratado con extracto al 1.44%, PT3= Mango pretratado con una mezcla de extracto al 1.44% + $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ al 0.5%).

Para evaluar posibles diferencias en el comportamiento del secado de las rebanadas de mango, se realizó un análisis de varianza. Los resultados obtenidos del ANOVA, muestran que durante los primeros 15 min, la razón de humedad (MR) no presenta diferencia significativa a un $\alpha = 0.05$, entre muestras con diferentes pretratamientos; sin embargo, de 15 a 45 min si existe diferencia significativa. A tiempos mayores de 60 min no existe diferencia significativa entre el control y los tratamientos. Santos-Sánchez *et al.* (2012), realizaron el deshidratado de jitomate en el mismo deshidratador que el usado en este trabajo. A 60°C con velocidad de aire de $1.2 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$ con rotación de charolas y reportaron que los principales factores que afectan a la MR son: la temperatura, la velocidad de aire de secado y en un menor grado, la rotación de las charolas.

Las curvas de velocidad de secado, proporcionan información muy importante sobre la velocidad a la que se está perdiendo el agua, en la Figura 16 se presentan las curvas de velocidad de secado en función de la razón de humedad de los diferentes pretratamientos. Así como también el periodo de velocidad constante y decreciente.

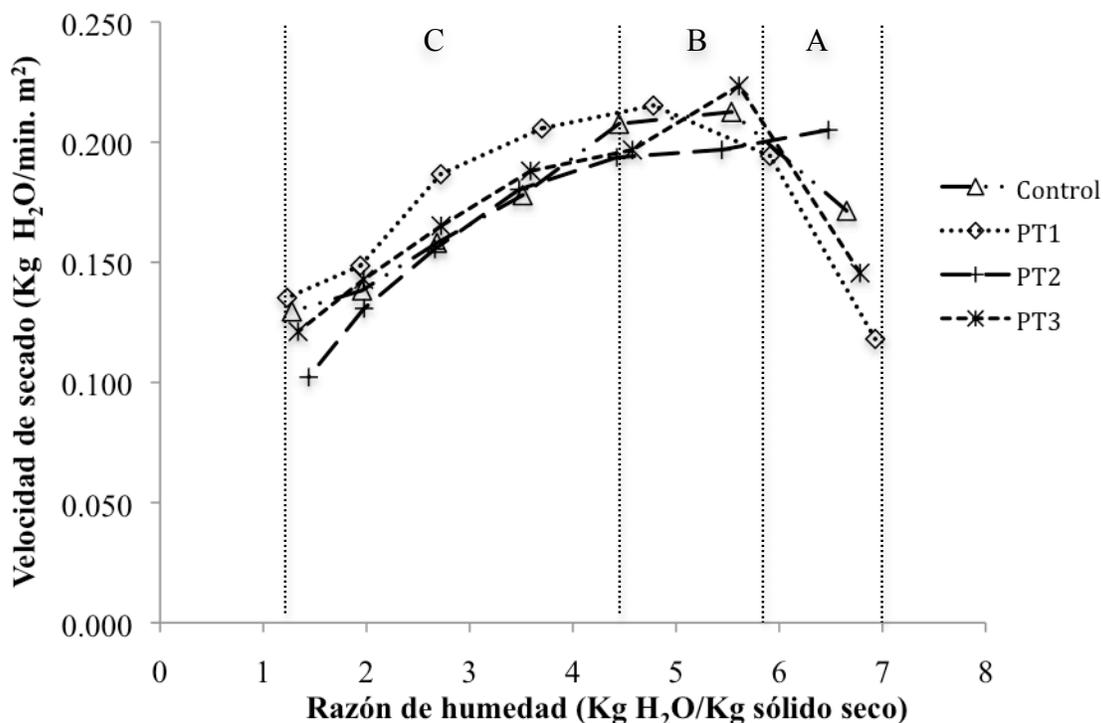


Figura 16. Curva de velocidad se secado en función de la razón de humedad de los diferentes pretratamientos.

En el segmento A, se observa el inicio del calentamiento del agua libre y el periodo de evaporación lenta, en todos los pretratamientos excepto para las muestras PT2, debido quizá al efecto del drenado. En segmento B, en todas los casos se observa un periodo de velocidad constante relativamente corto. Lo anterior se debe a que durante esta etapa la superficie del mango está muy húmeda y sobre ella hay una película de agua continua. Dicha capa está constituida por agua libre y actúa como si el sólido no estuviera presente, es decir, no existe una resistencia a la transferencia de masa del vapor por parte del producto (Geankoplis, 1993). Después en el segmento C se observa la etapa de velocidad decreciente, debido a que ya no se

tiene disponible al agua libre. Cabe resaltar que las muestras PT1, rebanadas pretratadas con sulfitos presentaron las velocidades de secados más altas comparadas con los demás tratamientos. El comportamiento de las curvas para las muestras control y PT2 son muy similares a las reportadas por Dissa *et al.* (2008) para rebanadas de mango Amelie de 5 mm de grosor deshidratadas en un secador de laboratorio con cámara climática estática con flujos de aire caliente a 60 °C.

7.2.1. Difusividades efectivas. La difusividad efectiva (D_{eff}), se calculó usando la pendiente de la curva del ln de la humedad relativa (MR) *versus* tiempo (Figura 17) en el periodo de velocidad decreciente para cada una de los pretratamientos, como se presento en la Figura 16.

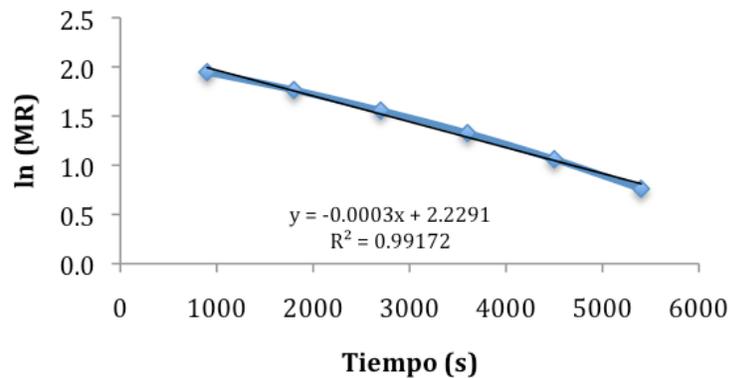


Figura 17. Gráfica de ln (MR) en función del tiempo de secado a 60°C para las rebanadas de mango pretratadas con metabisulfito de sodio al 0.5%.

Aremu *et al.* (2013) reportaron valores de D_{eff} en un intervalo de 3.89×10^{-10} a $6.99 \times 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ para rebanadas de mango secadas por lote con flujo de aire vertical, con espesor de 3, 6 y 9 mm a una temperatura de 60, 70 y 80°C, y una velocidad de aire de $3.5 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$. Dissa *et al.* (2008) también deshidrataron rebanadas de mango de 5 mm de espesor a una velocidad de aire de $0.88 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$ y temperaturas de secado de 60 y 70°C. Las difusividades efectivas obtenidas a esas temperaturas fueron de 1.09×10^{-9} y $1.45 \times 10^{-9} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$, respectivamente. En la Tabla 12, se presentan las difusividades efectivas obtenidas para las rebanadas deshidratadas en el

presente trabajo. Los valores de D_{eff} son similares a los reportados por Dissa *et al.* (2008) para rebanadas de mango de 5 mm de espesor, deshidratadas a 60°C.

Tabla 12. Difusividades efectivas de las rebanadas de mango deshidratado.

Pretratamientos	$D_{\text{eff}} \times 10^{-9} \text{ (m}^2 \cdot \text{s}^{-1}\text{)}$
Control	1.23
PT1	1.45
PT2	1.32
PT3	1.29

No hay diferencias significativas ($\alpha = 0.05$) entre los valores obtenidos. PT1=Mango pretratado con $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ al 0.5%, PT2= Mango pretratado con extracto al 1.44%, PT3= Mango pretratado con una mezcla de extracto al 1.44% + $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ al 0.5%.

Por lo tanto, se puede decir que la D_{eff} es fuertemente dependiente de la temperatura del aire secante y del espesor de la rebanada, no así del pretratamiento utilizado.

7.2.3. Constantes de velocidad de secado. Las constantes de velocidad de secado obtenidas en cada pretratamiento y control, se presentan en la Tabla 13.

Tabla 13. Constantes de velocidad de secado para las rebanadas de mango deshidratadas.

Pretratamientos	n	$k \times 10^{-3}$	A	R^2
Control	1.46±0.12	1.97±0.90	1.03±0.09 ^{a,b,c}	0.9952±0.002
PT1	1.54±0.13	1.53±0.90	1.05±0.00 ^a	0.9954±0.000
PT2	1.42±0.09	2.27±0.80	1.06±0.06 ^c	0.9941±0.001
PT3	1.46±0.11	2.03±0.90	1.02±0.04 ^{a,b}	0.9951±0.001

Las letras a-c indican diferencia media significativa a $\alpha = 0.05$, por la prueba de Duncan. PT1=Mango pretratado con $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ al 0.5%, PT2= Mango pretratado con extracto al 1.44%, PT3= Mango pretratado con una mezcla de extracto al 1.44% + $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ al 0.5%.

El parámetro k puede ser considerado como una medida de la velocidad de pérdida de agua. En este proyecto no se observó diferencias significativa en la constante k para diferentes

pretratamientos. Este comportamiento es análogo al observado para la D_{eff} .

Los valores de las constantes de velocidad encontrados en este trabajo, son ligeramente superiores a los reportados por Edoun *et al.* (2014), quienes obtienen valores de $k=0.00434$, $n=0.9779$, $A=1.003$ y $R^2=0.998$ para rebanadas de mango a 3 mm de grosor, deshidratadas a una temperatura de 60°C y una velocidad de aire de 0.6 m•s⁻¹. Cabe resaltar que estos valores fueron calculados utilizando la ecuación de Midilli *et al.* (2002) al igual que en este proyecto. Los valores del coeficiente de determinación (R^2) encontrados en ambos estudios son muy similares indicando que existe un buen ajuste de los datos sobre la curva.

Consecuentemente, se establece que los pretratamientos utilizados en el presente trabajo no ejercen un efecto significativo sobre la velocidad de secado.

7.3. DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS DE CALIDAD DE LAS REBANADAS DESHIDRATADAS

7.3.1. Determinación de color. Los resultados de los parámetros L^* , a^* y b^* de las diferentes muestras pretratadas que se sometieron al deshidratado se presentan en la Tabla 14.

Tabla 14. Color en las rebanadas deshidratadas y fresco.

Pretratamientos	L^*	a^*	b^*	C	h°
Control	65.61±3.00 ^{a,b}	16.97±1.37 ^a	66.74±4.33 ^a	68.88±4.37 ^a	75.72±1.00 ^b
PT1	71.38±3.39 ^a	10.88±1.88 ^c	69.35±2.37 ^a	70.22±2.31 ^a	81.08±1.61 ^a
PT2	60.50±4.20 ^b	14.14±1.87 ^b	58.81±5.01 ^b	60.52±4.87 ^b	76.39±2.17 ^b
PT3	66.83±3.97 ^a	12.33±1.53 ^{b,c}	63.44±4.64 ^{a,b}	64.64±4.56 ^{a,b}	78.96±1.59 ^a
Fresco	63.56±4.73	11.45±1.95	57.81±4.22	58.95±4.40	78.84±1.43

Las letras a-c indican diferencia media significativa a $\alpha = 0.05$, por la prueba de Duncan. PT1=Mango pretratado con $Na_2S_2O_5$ al 0.5%, PT2= Mango pretratado con extracto al 1.44%, PT3= Mango pretratado con una mezcla de extracto al 1.44% + $Na_2S_2O_5$ al 0.5%.

Los parámetros de color más importantes en el deshidratado de mango es el b^* y L^* , debido a que el primero mide el grado de amarillez y el segundo indica el grado de luminosidad de la muestra en una escala de 0 (color negro) a 100 (blanco). La prueba de Duncan muestra que las rebanadas que fueron pretratadas con el extracto de semilla de mango al 1.44% sin la presencia de los sulfitos, presentan una disminución significativa en casi todos los valores de color incluyendo en b^* y L^* . Este comportamiento probablemente se debe a que el extracto de semilla de mango al contener compuestos fenólicos que son usados como sustratos por las enzimas fenolasas, sufren la degradación a melaninas, causando reacciones redox en presencia del oxígeno (Barreiro y Sandoval 2006). Cheng *et al.* (2013) y Juraga *et al.* (2011) mencionan que se necesitan temperaturas superiores a 62°C y frecuencias por arriba de 20 kHz para inactivar las enzimas que causan el oscurecimiento. De acuerdo a las observaciones por estos autores, se puede decir que posiblemente el extracto todavía contiene enzimas que pudieran causar el oscurecimiento en las rebanadas de mango, debido a que la temperatura (40°C) y tiempo (30 min) de sonicación usados para obtener el extracto son menores a las recomendadas para la inactivación de las enzimas.

El ángulo Hue (h°) indica el tono, idealmente un valor de $h^{\circ} = 90^{\circ}$ representa un tono amarillo, por lo tanto a partir de los datos de la Tabla 14 podemos concluir que las muestras pretratadas con sulfitos presentan un tono más amarillo que el resto de las rebanadas deshidratadas.

Los valores de L^* y b^* para las rebanadas pretratadas con $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ al 0.5% y la solución de extracto de semilla de mango al 1.44% y $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ al 0.5%, son superiores a los valores reportados por Zuluaga *et al.* (2010) para las rebanadas de mango var. Tommy Atkins de Colombia osmodeshidratadas pretratadas con sacarosa concentrada al 40% y deshidratadas a una temperatura de 60°C , obtuvieron valores de $L^*=64.13\pm 3.78$, y $b^*=52.81\pm 6.68$. Este comportamiento se debe posiblemente, a la presencia de los sulfitos, al ser considerados blanqueadores y antioxidantes contribuyen en la retención del color amarillo y permiten un menor oscurecimiento en las rebanadas de mango deshidratadas. Al comparar los valores de color obtenidos en el presente trabajo con los reportados por Chen *et al.* (2007) ($L^*=66.79$, $a^*=18.71$ y $b^*=64.08$) para rebanadas de 3 x 9 cm, pretratadas con NaHSO_3 al 1% y deshidratadas a 60°C , se determinó que ambos estudios de secado arrojan resultados de color

similares. Esta similitud probablemente se debe a la utilización de sulfitos como pretratamiento en los dos trabajos de deshidratado de mango, causando el mismo efecto.

7.3.2. Cuantificación de fenoles totales. El contenido de fenoles totales para las rebanadas de mango pretratadas y deshidratadas, así como para el mango fresco y el control, se muestra en la Figura 18.

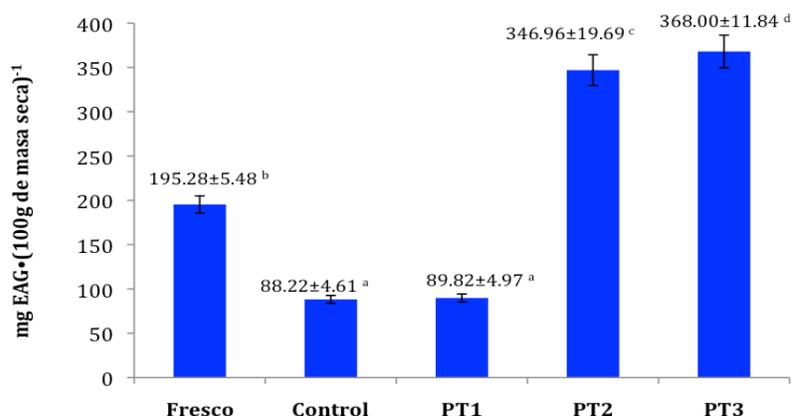


Figura 18. Contenido de fenoles totales de mango deshidratado y fresco (**Control**= Mango deshidratado sin pretratamiento, **PT1**= Mango pretratado con Na₂S₂O₅ al 0.5%, **PT2**= Mango pretratado con extracto al 1.44%, **PT3**= Mango pretratado con una mezcla de extracto al 1.44% + Na₂S₂O₅ al 0.5%). Superíndices a-d indican diferencia significativa entre las medias ($\alpha = 0.05$) por la prueba de Duncan.

Las rebanadas de mango fresco presentaron un contenido de fenoles totales de 22.84 ± 0.64 mg EAG • (100 g de mango fresco)⁻¹. Este valor se encuentra dentro del intervalo reportado por Manthey y Perkins-Veazie (2009), 20.1-30.1 mg EAG • (100 g de mango fresco)⁻¹.

El análisis comparativo de medias de Duncan, muestra que el control y las rebanadas de mango pretratadas con Na₂S₂O₅ al 0.5% (PT1) no presentan diferencia significativa ($\alpha = 0.05$). Ambos pretratamientos retienen solamente alrededor del 46% de los fenoles. Este porcentaje de retención es similar al reportado por Chong *et al.* (2013) quienes deshidrataron rebanadas de mango utilizando aire caliente-frío (50.4%). Por otra parte, las rebanadas deshidratadas que fueron pretratadas con extracto de semilla de mango (PT2 y PT3) se fortificaron con fenoles en un 293.3 y un 317.1%, respectivamente (Figura 18) con respecto a las rebanadas control.

Esto se debe a la difusión de los compuestos fenólicos desde el extracto de semilla de mango hacia las rebanadas de mango durante el periodo de inmersión.

7.3.3. Cuantificación de vitamina C. La concentración de vitamina C para las rebanadas de mango pretratadas y deshidratadas, así como para el mango fresco y el control, se muestra en la Figura 19.

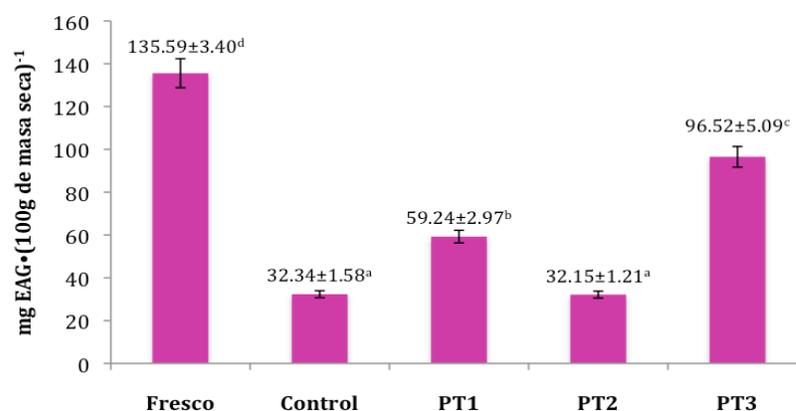


Figura 19. Contenido de vitamina C en muestras de mango deshidratado y fresco (**Control**=Mango deshidratado sin pretratamiento, **PT1**=Mango pretratado con Na₂S₂O₅ al 0.5%, **PT2**= Mango pretratado con extracto al 1.44%, **PT3**=Mango pretratado con una mezcla de extracto al 1.44% + Na₂S₂O₅ al 0.5%). Superíndices a-d indican diferencia significativa entre las medias ($\alpha = 0.05$) por la prueba de Duncan.

Las rebanadas de mango fresco presentaron un contenido de vitamina C de 15.88 ± 0.39 mg EAA • (100 g de peso fresco)⁻¹. Esta concentración es similar a la reportada por Ribeiro-Rocha *et al.* (2007): 11 mg • (100 g de peso fresco)⁻¹. Mediante el análisis comparativo de medias de Duncan, se determinó que no hay diferencias entre el control y la muestra PT2. Por otro lado la muestra PT3, presentó un contenido de vitamina C tres veces mayor respecto al encontrado en el control y PT2 (Figura 20). En las muestras PT1 y PT3 se presentó una retención de vitamina C de 43.7 y 71.2% respectivamente. Estos valores son superiores a los descritos por Ndawula *et al.* (2004), quienes deshidrataron rebanadas de mango de 3-5 mm de espesor en un deshidratador solar abierto. Estos autores reportaron un contenido de vitamina C de 25.4 mg • (100 g de peso seco)⁻¹, equivalente a una retención del 15.5% en las rebanadas

deshidratadas. Los resultados demostraron que los pretratamientos con soluciones de sulfitos ayudaron a retener vitamina C en los productos deshidratados (Calvo, 1991).

7.3.4. Cuantificación de carotenos totales. Los resultados de la concentración de carotenos totales en las rebanadas de mango pretratadas y deshidratadas, así como para el mango fresco y control, se muestran en la Figura 20.

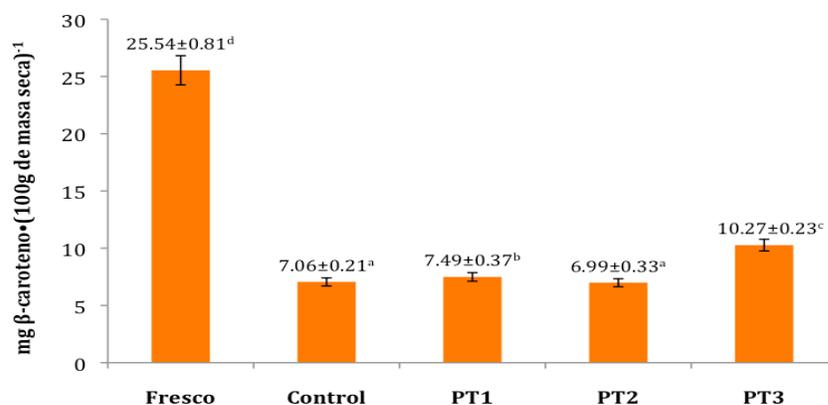


Figura 20. Contenido de carotenos en el mango deshidratado y fresco (**Control**=Mango deshidratado sin pretratamiento, **PT1**=Mango pretratado con Na₂S₂O₅ al 0.5%, **PT2**=Mango pretratado con extracto al 1.44%, **PT3**=Mango pretratado con una mezcla de extracto + Na₂S₂O₅ al 0.5%). Superíndices a-d indican diferencia significativa entre las medias ($\alpha = 0.05$) por la prueba de Duncan.

El contenido de carotenos totales en la pulpa de mango fresco es de 2.99±0.81 mg de β -caroteno • (100 g de masa fresca)⁻¹. Este valor se encuentra dentro del intervalo reportado por Manthey y Perkins-Veazie (2009), 0.308-3.9 mg de carotenos • (100 g de mango fresco)⁻¹. Los autores mencionan que las concentraciones van a depender del tipo de mango, de la locación y de la fecha de cosecha.

Las muestras PT1 y PT3 presentan una retención de los carotenos totales de 6.1 y 45.5% respectivamente comparado con la concentración de las muestras control. De acuerdo a las funciones que ejercen los compuestos fenólicos presentes en el extracto de semilla de mango y los sulfitos (Abdalla *et al.*, 2007; Almeida y Nogueira, 1995), la conservación de los carotenos totales en PT3 probablemente se atribuye a que los sulfitos y compuestos generan una barrera de protección en la superficie de la rebanada de mango que ayuda a reducir la degradación de los carotenos totales. Por otra parte el uso de sulfitos individualmente esta limitado,

contribuyendo poco con la protección de los carotenos. Este comportamiento se observa en los resultados de Chen *et al.* (2007) quienes reportan un contenido de carotenos de $4.23 \text{ mg} \cdot (100 \text{ g de masa seca})^{-1}$ en rebanadas de mango de 3 x 9 cm deshidratadas pretratadas con NaHSO_3 al 1% con aire caliente a una temperatura de 60°C .

Guarte *et al.* (2005), mencionan que la concentración de carotenos varía en función de la variedad, del origen, grado de madurez y condiciones de procesado del mango, siendo $6.80 \text{ mg} \cdot (100 \text{ g de masa seca})^{-1}$ la concentración promedio de los carotenos totales. Este valor es muy similar a los reportado en este trabajo para las muestras control y PT2.

Por otro lado se observa, que el extracto de semilla de mango al 1.44% no evita la degradación de los carotenos durante la etapa de secado.

7.3.5. Determinación de sulfitos. Las concentraciones de sulfitos en las muestras PT1 y PT3 fueron de 820.10 ± 11.45 y $900.28 \pm 43.97 \text{ mg de } \text{SO}_3^{2-} \cdot (\text{kg de masa seca})^{-1}$. Mediante la prueba de Duncan, se encontró que existe diferencia significativa ($\alpha=0.05$) entre los tratamientos PT1 y PT3. El último tratamiento presentó aproximadamente un 9% más sulfitos que PT1. El resultado indica que probablemente el extracto de semilla de mango promovió un incremento en la difusión de sulfitos hacia la rebanada de mango durante la inmersión o quizá también el extracto ejerció su poder protector hacia los sulfitos.

Las concentraciones de SO_3^{2-} encontrada en el presente estudio se encuentran dentro del intervalo reportado por Isaac *et al.* (2006): para alimentos deshidratados $280\text{-}2100 \text{ mg de } \text{SO}_3^{2-} \cdot (\text{kg muestra seca})^{-1}$. Kubilay *et al.* (2006) mencionan que la concentración límite de sulfitos para frutos deshidratados se ha establecido en $2000 \text{ mg} \cdot (\text{kg de muestra})^{-1}$ (US Federal Register, 1988). Considerando la afirmación anterior, las muestras pretratadas con sulfitos en este trabajo cumplen con las regulaciones internacionales.

7.3.6. Identificación y cuantificación de compuestos fenólicos individuales. Se llevó a cabo la determinación de la mangiferina, galato de metilo y de los ácidos, cafeico, ferúlico, *p*-cumárico y gálico. En la Figura 21 se presenta el cromatograma de los seis estándares utilizados para la determinación de los compuestos fenólicos antes mencionados, a una longitud de onda de 280 nm.

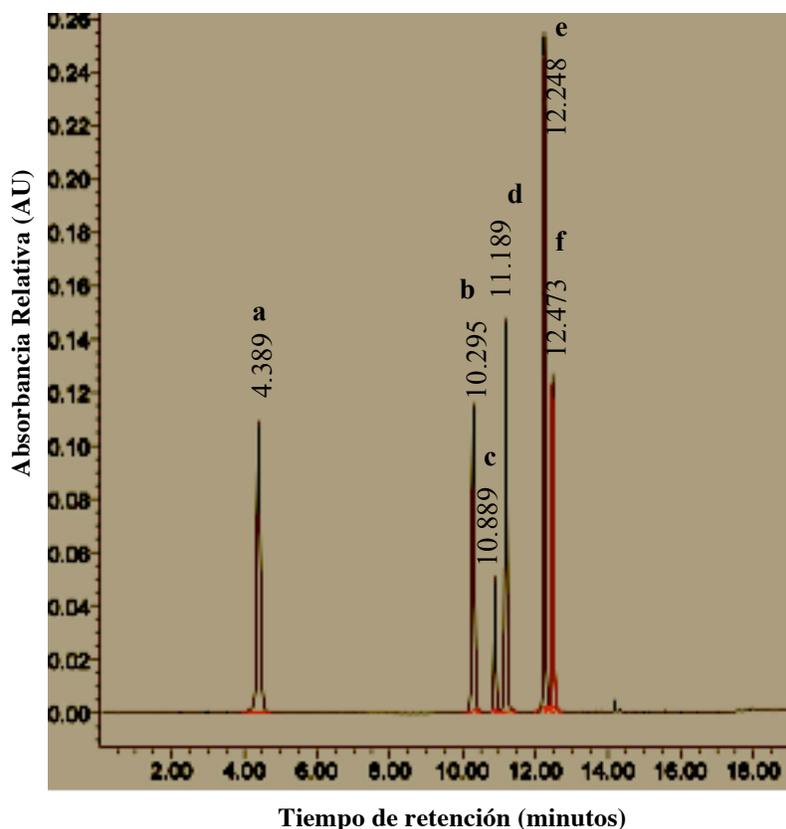


Figura 21. Cromatograma de los estándares a 280 nm. a) ácido gálico, 144 ppm; b) galato de metilo, 124 ppm; c) mangiferina, 100 ppm; d) ácido cafeico, 120 ppm; e) ácido *p*-cumárico, 116 ppm; f) ácido ferúlico, 128 ppm.

El pico menos intenso en el cromatograma corresponde a la mangiferina, debido a la baja absorptividad que tiene este analito a la longitud de onda antes señalada. Por lo tanto, para este analito la cuantificación se realizó a 365 nm, Schieber *et al.*, (2000) reportaron que a esa longitud de onda no se observan interferencias para cuantificar a la mangiferina.

En la Figura 22 se presenta un cromatograma a una longitud de onda de 280 nm para la muestra pretratada con extracto de semilla de mango al 1.44% donde se observan los analitos de interés que fueron identificados y cuantificados.

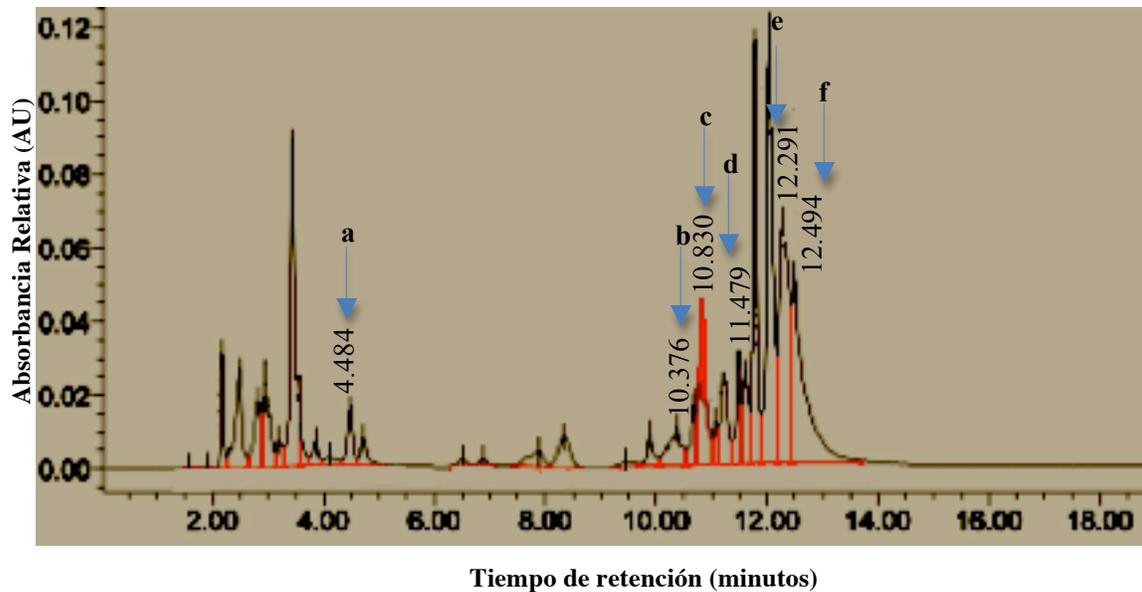


Figura 22. Cromatograma de la rebanada de mango deshidratada, pretratada con 100 % de extracto de semilla de mango. a) ácido gálico; b) galato de metilo; c) mangiferina; d) ácido cafeico; e) ácido *p*-cumárico; f) ácido ferúlico.

La resolución del cromatograma permitió realizar la cuantificación de los ácidos fenólicos y del galato de metilo. El ácido *p*-cumárico y ferúlico, presentaron tiempos de retención cercanos (12.291, 12.494 min); sin embargo, esto no impidió llevar a cabo su cuantificación debido a que se corroboró su autenticidad con sus espectros de absorbancia.

En la Figura 23 se presenta un cromatograma adquirido a 365 nm para las rebanadas de mango pretratadas con $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ al 0.5% (PT1) y deshidratadas. Se puede apreciar que no hay interferencias por otros compuestos presentes en la muestra debido a que se utilizó la longitud de onda donde la mangiferina ejerce mayor absorbancia, como se muestra en el cromatograma el pico a 10.732 min es el de mayor intensidad perteneciente a la mangiferina.

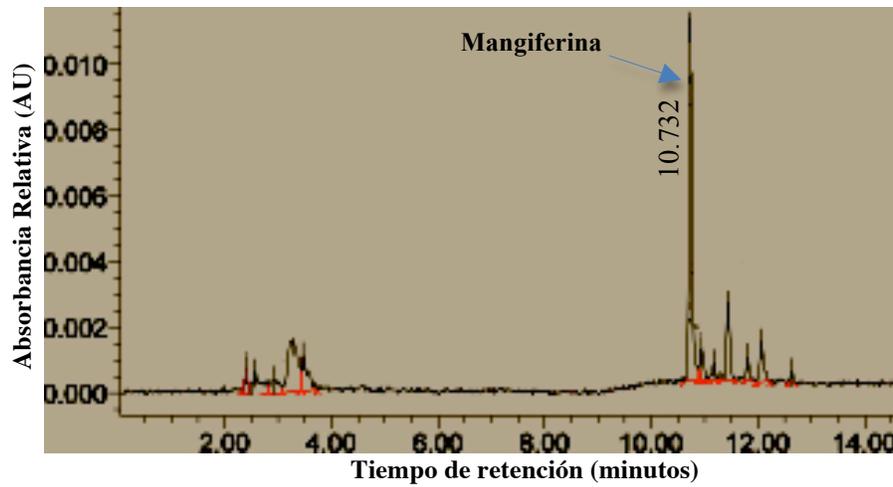


Figura 23. Cromatograma a 365 nm para determinación de la mangiferina. De las muestras pretratadas con $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ al 0.5%.

A partir de los resultados reportados en la Tabla 15 se observa que las muestras control tienen las concentraciones más bajas para todos los analitos estudiados.

Tabla 15. Compuestos fenólicos determinados por HPLC en las rebanadas de mango deshidratadas.

Compuestos	Pretratamientos	Tiempo de retención (min)	Concentración, mg•(100 g de m.s) ⁻¹
Ácido gálico	Control	4.60±0.02	13.49±0.02 ^a
	PT1	4.60±0.02	17.98±0.29 ^b
	PT2	4.52±0.04	14.71±0.18 ^c
	PT3	4.60±0.09	26.42±0.16 ^d
Galato de metilo	Control	10.34±0.03	7.26±0.15 ^a
	PT1	10.34±0.04	6.83±0.31 ^a
	PT2	10.38±0.01	9.25±0.49 ^b
	PT3	10.36±0.11	10.08±0.28 ^b
Mangiferina	Control	10.73±0.02	5.31±0.45 ^a
	PT1	10.73±0.03	4.75±0.7 ^a
	PT2	10.68±0.00	5.02±0.17 ^a
	PT3	10.69±0.05	5.65±0.5 ^a
Ácido cafeico	Control	11.52±0.03	6.16±0.26 ^a
	PT1	11.40±0.08	5.52±0.53 ^a
	PT2	11.48±0.00	10.53±0.66 ^b
	PT3	11.52±0.04	26.10±0.71 ^c
Ácido ferúlico	Control	12.61±0.02	10.86±0.52 ^a
	PT1	12.64±0.03	11.61±0.57 ^{a,c}
	PT2	12.49±0.00	37.40±0.47 ^b
	PT3	12.54±0.11	13.99±0.75 ^c
Ácido p-cumárico	Control	12.37±0.10	4.59±0.45 ^a
	PT1	12.45±0.03	4.39±0.28 ^a
	PT2	12.29±0.00	102.18±0.67 ^b
	PT3	12.28±0.07	108.94±0.55 ^c

Superíndices a-d = diferencia media significativa $\alpha = 0.05$ por la prueba de Duncan. (m.s= Muestra seca, **Control**=Mango deshidratado sin pretratamiento, **PT1**=Mango pretratado con Na₂S₂O₅ al 0.5%, **PT2**=Mango pretratado con extracto al 1.44%, **PT3**=Mango pretratado con una mezcla de extracto + Na₂S₂O₅ al 0.5%)

El tratamiento con sulfitos al 0.5% (PT1) solamente ayuda a incrementar la retención del ácido gálico. Por otra parte, el uso de los extractos de semilla de mango al 1.44% incrementa significativamente el contenido de galato de metilo, los ácidos ferúlico, cafeico y *p*-cumárico; y en menor grado al ácido gálico.

La combinación de los sulfitos con extracto de semilla de mango (PT2) promovió un incremento drástico en la concentración del ácido *p*-cumárico, y en general un incremento significativo del resto de los analitos respecto al control, esto quizá se atribuye a que tiene mayor facilidad de difusión y esta presente en mayor concentración en el extracto de semilla de mango. Esto hace evidente que se produce una fortificación de las rebanadas de mango con compuestos fenólicos. También se observa que para la mayoría de los analitos no se observa una diferencia significativa entre el control y PT1 en relación a los compuestos fenólicos estudiados. Esta tendencia también se observó en los resultados para fenoles totales.

La concentración de mangiferina en las rebanadas pretratadas y deshidratadas de mango, no presentan diferencia significativa para ninguna de las muestras. Este resultado indica que las condiciones de procesado de las rebanadas de mango no presentan efecto sobre la retención o fortificación de la rebanadas de mango con mangiferina.

La concentración del ácido gálico en las rebanadas pretratadas con PT3 es similar al reportado por Robles-Sánchez *et al.* (2009), $28 \text{ mg} \cdot (100 \text{ g peso seco})^{-1}$ para la pulpa de mango. Poovarodom *et al.* (2010) reportaron que las concentraciones reportadas para los ácidos cafeico y ferúlico en mango fresco var. Nam Dok Mai No.4 fueron de 0.096 ± 0.005 y $1.487 \pm 0.07 \text{ mg} \cdot (100 \text{ g peso seco})^{-1}$, respectivamente (Estas concentraciones son menores a las encontradas en el presente proyecto).

Cabe mencionar que no existe información para todos los compuestos fenólicos que fueron analizados en este proyecto para rebanadas de mango deshidratadas. Esto evitó tener valores de referencia de otros autores. De la poca información disponible sobre los compuestos individuales, se observa que las concentraciones son relativamente superiores a las reportadas en la literatura. Esto se debe posiblemente al método de extracción utilizado en este trabajo, la extracción asistida por ultrasonido, que se ha demostrado ser altamente eficiente (Soong y Barlow. 2006). También, se debe considerar que el extracto utilizado para los pretratamientos se prepararon a una concentración de compuestos fenólicos diez veces superior a los encontrados en la pulpa de mango fresco, $195.28 \pm 5.48 \text{ mg EAG} \cdot (100 \text{ g peso seco})^{-1}$.

8. CONCLUSIONES

Se estudió el efecto de los pretratamientos con extracto de semilla de mango al 1.44% y sulfitos al 0.5% en las rebanadas de mango deshidratadas en un secador de charolas giratorias construido en la Universidad Tecnológica de la Mixteca, en la que se concluyen las siguientes observaciones.

La combinación de extracto de semilla de mango al 1.44% y metabisulfito de sodio al 0.5%, tiene un efecto importante sobre la retención de los constituyentes antioxidantes. En el caso de los compuestos fenólicos la concentración se cuadruplica respecto a las rebanadas deshidratadas sin pretratamiento y casi se duplica con respecto al mango fresco. Debido a esto se concluye que la combinación de la aplicación de sulfitos y extracto de semilla de mango, constituye un pretratamiento útil para la preservación de carotenos y vitamina C en el deshidratado de rebanadas de mango.

El proceso de deshidratado induce la disminución de los valores de color L^* y b^* en las rebanadas de mango que fueron pretratadas con extracto de semilla de mango al 1.44%. La disminución de L^* y b^* se debe al oscurecimiento de la superficie de las rebanadas deshidratadas. Cheftel y Cheftel, (2000); Zuluaga *et al.* (2010) reportaron que las fenolasas degradan a los compuestos fenólicos originando productos de oscurecimiento. Por lo tanto es posible que el oscurecimiento observado en las rebanadas de mango pretratadas con extracto de semilla de mango sea inducido por esas enzimas.

Las rebanadas que fueron pretratadas con el extracto de semilla de mango, presentan una fortificación de las concentraciones de ácido *p*-cumárico, ácido ferúlico y en menor proporción de los ácidos cafeico y gálico, así como de galato de metilo. La

concentración de mangiferina en las rebanadas de mango deshidratadas resultaron independientes del pretratamiento.

9.PERSPECTIVAS

- 1) Optimizar la concentración del pretratamiento compuesto por extracto de semilla de mango y $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$, con la finalidad de mejorar el color y maximizar la concentración de los compuestos antioxidantes de las rebanadas deshidratadas.
- 2) Evaluar el efecto de la termosonicación de rebanadas de mango a 40 y 50°C para inactivar las enzimas polifenoloxidasas que están presentes en el extracto de semilla de mango, con la finalidad de mejorar el color en el producto final y reducir la degradación de los compuestos fenólicos.
- 3) Evaluar otros blanqueadores tales como el ácido cítrico o ascórbico combinado con el extracto de semilla de mango, para mejorar el color del producto y minimizar efectos secundarios en los potenciales consumidores del producto del mango deshidratado.
- 4) Cuantificar por HPLC el β -caroteno en las rebanadas de mango pretratadas y deshidratadas, tomándolo como parámetro de calidad del producto.

10. BIBLIOGRAFÍA

- Abano E. E., Sam-Amoah L. K., Owusu J., Engmann F. N. **2013**. Effects of ascorbic acid, salt, lemon juice and honey on drying kinetics and sensory characteristic of dried mango. *Journal of Food Science and Technology*. 1, 1-10.
- Abdalla E. M. A., Darwish S. M., Ayad E. H. E., El-Hamahmy R. M. **2007**. Egyptian mango by-product 2: Antioxidant and antimicrobial activities of extract and oil from mango seed kernel. *Food Chemistry*. 103, 1141-1152.
- Aguerre R. J., Gabbito J. F., Chirife J. **1985**. Utilization of Fick's second law for the evaluation of diffusion coefficients in food processes controlled by internal diffusion. *Journal of Food Technology*. 20, 623-629.
- Aguilar M. J. **2012**. Métodos de conservación de alimentos. Estado de México. Editorial, Red Tercer Milenio.
- Ahmed A., Saeid D., Eman A., Reham E. **2007**. Egyptian mango by-product 1. Compositional quality of mango seed kernel. *Food Chemistry*. 103, 1134-1140.
- Ahmed J., Shivhare U.S., Kaur M. **2002**. Thermal colour degradation kinetics of mango puree. *International Journal of Food Properties*. 5, 359-366.
- Ajila M. C., Rao-Jaganmohan J. L., Rao-Prasada S. J. U. **2010**. Characterization of bioactive compounds from raw and ripe *Mangifera indica* L. Peel extracts. *Food and Chemical Toxicology*. 48, 3406-3411.
- Akpinar K. E. **2006**. Determination of suitable thin layer drying curve model for some vegetables and fruits. *Journal of Food Engineering*. 73, 75-84.
- Almeida M. E. M; Nogueira J. N. **1995**. The control of polyphenol oxidase activity in fruits and vegetables A study of the interactions between the chemical compounds used and heat treatment. *Plant Foods for Human Nutrition*. 47, 245-256.
- AOAC Official Methods of Analysis. **1995**. Food additives. Capítulo 47, 27-29.
- AOAC Official Methods of Analysis. **1932**. 932.12 Solids (solubles) in fruits and fruit products. Capítulo 15, 384.
- Aremu A. K., Adedokun A. J., Abdulganiy O. R. **2013**. Effect of slice thickness and temperature on the drying kinetics of mango (*Mangifera Indica*). *International Journal of Research and Reviews in Applied Sciences*. 15, 41-50.
- Barreiro M. J. A; Sandoval B. A. J. **2006**. Operaciones de conservación de alimentos por bajas temperaturas. Venezuela. Editorial, Equinoccio Universidad Simón Bolívar.
- Barreto J. C., Trevisan M.T.S., Hull W. E., Erben G., De Brito E. S., Pfundstein B., Owen R.W. **2008**. Characterization and quantitation of polyphenolic compounds in bark, kernel, leaves, and peel of mango (*Mangifera indica* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 56, 5599-5610.
- Brecht J. K. **2010**. Mango postharvest best management practices manual. University of Florida. Pag. 58.
- Caparino O. A., Tang J., Nindo C. I., Sablani S. S., Powers J. K., Fellman J. K. **2012**. Effect of

- drying methods on the physical properties and microstructures of mango (Philippine 'Carabao' var.) powder. *Journal of Food Engineering*. 111, 135–148.
- Calvo R. M. **1991**. Aditivos alimentarios. Propiedades, aplicaciones y efectos sobre la salud. México. Editorial Zaragoza.
- Corzo O., Bracho N., Alvarez C. **2008**. Determination of suitable thin layer model for air drying of mango slices (*Mangifera indica* L.) at different air temperatures and velocities. *Journal of Food Process Engineering*. 34, 332-350.
- Chen J. P., Tai C. Y., Chen B. H. **2007**. Effects of different treatments on the stability of carotenoids in Taiwanese mango (*Mangifera indica* L.). *Food Chemistry*. 100, 1005-1010.
- Cheftel J. C y Cheftel H. **2000**. Introducción a la Bioquímica y Tecnología de los alimentos. Acirbia. Zaragoza.
- Cheng X. F., Zhang M., Adhikan B. **2013**. The inactivation kinetics of polyphenol oxidase in mushroom (*Agaricus bisporus*) during thermal and thermosonic treatments. *Ultrasonics Sonochemistry*. 20, 674-679.
- Chong C. H., Law C. L., Figiel A., Wojdył A., Oziembłowski M. **2013**. Colour, phenolic content and antioxidant capacity of some fruits dehydrated by a combination of different methods. *Food Chemistry*. 141, 3889-3896.
- Crank J. **1975**. The mathematics of diffusion. 2^{da} Ed. OXFORD. New York.
- Crisoto C. **1994**. Stone fruit maturity indices: a descriptive review. *Postharvest News and Information*. V.5, n.6. 65N-68N.
- Desmorieux H., Diallo C., Coulibaly Y. **2008**. Operation simulation of a convective and semi-industrial mango dryer. *Journal of Food Engineering*. 89, 119-127.
- Dewanto V., Wu X., Adom K. K., Liu R. H. **2002**. Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. *Journal of Agricultural Food Chemistry*. 50, 3010-3014.
- Dinani T. S., Hamdami N., Shahedi M., Havet M. **2014**. Mathematical modeling of hot air/electrohydrodynamic (EHD) drying kinetics of mushroom slices. *Energy Conversion and Management*. 86, 70-80.
- Dissa A. O., Desmorieux H., Barthiebo J., Koulidiati J. **2008**. Convective drying characteristics of Amelie mango (*Mangifera Indica* L. CV.'Amelie') with correction for shrinkage. *Journal of Food Engineering*. 88, 429-437.
- Dorta E. M., Lobo G., González M. **2012**. Using drying treatments to stabilize mango peel and seed: Effect on antioxidant activity. *LWT- Food Science and Technology*. 45, 261-268.
- Dürüst N., Sümengen D., Dürüst Y. **1997**. Ascorbic-acid and element contents of foods of Trabzon (turkey). *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 45, 2085-2087.
- Edoun M., Matuam B., Kuitche A. **2014**. Mathematical modelling of thin layer mangoes (*Mangifera indica* L.) drying process. *International Journal of Current Engineering and Technology*. 4, 2347-5161.
- El-Amin O. M. A., Dieter V. H., Wolfgang L. **2008**. Drying kinetics and colour change of mango slices as affected by drying temperature and time. 2008 Tropentag international conference on "Competition for resources in a changing world: new drive for rural development" Hohenheim, Alemania.
- Egeland S. E., Eikrem W., Thronsen J., Wilhelm C., Zapata M., Liaaen-Jensen S. **1995**. Carotenoids from further prasinophytes. *Biochemical Systematics and Ecology*. 23, 747-755.

- Escalante E. V. **2006**. Análisis y mejoramiento de la calidad. 1^{ra} Ed. Limusa. México.
- FAOSTAT. FAO Statistical Database-Agriculture. **2010**. <http://www.unctad.info/en/Infocmm/AACP-Products/COMMODITY-PROFILE---Mango/> (Accesado Enero, 2013)
- Ferreira F. R., Valentim I. B., Ramonesa E. L.-C., Trevisan M. T.-S., Olea-Azar, B., Perez-Cruz F., Abreu F. C., Goulart M. O.-F. **2013**. Antioxidant activity of the mangiferin inclusion complex with b-cyclodextrin. *Food Science and Technology*. 1-2.
- Filimon A. B. **2011**. Análisis de alimentos, manual de prácticas. 1^{dra} Ed. Editorial Advertisement. México.
- Foust S. A., Wenzel A. L., Clump W. C., Maus L., Andersen B. L. **1987**. Principios de operaciones unitarias. 2^{da} Ed. CECSA. México.
- Garg N y Prakash O. **2006**. Biodegradation of mango kernel by *Syncephalastrum racemosum* and its biological control. *BioControl*. 51, 353-361.
- Geankoplis C. J. **1993**. Transport processes and unit operations. Englewood Cliffs, N. J. Pentice Hall International. 579-634.
- Goyal R. K., Kingsly A. A. P., Manikantan., Ilaayas S. M. **2006**. Thin-layer drying kinetics of raw mango slices. *Biosystems Engineering*. 95, 43-49.
- Gramza A., Pawlak-Lemańska K., Korczak J., Maşowicz E., Rudzinska M. **2005**. Tea extracts as free radical scavengers. *Polish Journal of Environmental Studies*. 14, 861-867.
- Guarte R. C., Pott I., Mühlbauer. **2005**. Influence of drying parameters on β -carotene retention in mango leather. *Fruits*. 60, 255-265.
- Harris C. D. **2007**. Análisis químico cuantitativo. California. 3^{ra} edición. Editorial Reverté.
- Hayes W. A., Smith P. G., Morris A. E. **1998**. The production and quality of tomato concentrates. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 7, 537-564.
- Hernández-Valdez C. E. **2009**. Acción y efectos de la polifenol oxidasa en alimentos. Monografía, Universidad Veracruzana.
- Hofman P. J., Smith L. G., Joyce D. C., Johnson G. I., Meiburg G. F. **1997**. Bagging of mango (*Mangifera indica* cv. 'keitt') fruit influences quality and mineral composition. *Postharvest Biology and Technology*. DOI:10.1016/50925-5214(97)00039-2.
- Issac A., Livingstone C., Wain A. J., Compton R. G., Davis J. **2006**. Electroanalytical methods for the determination of sulfite in food and beverages. *Trends in analytical Chemistry*. 25, 589-598.
- Jaya S., Das H. **2003**. A vacuum drying model for mango pulp. *Drying Technology*. 21, 1215-1220.
- Jiménez-Durán A y Salas-Coronado R. **2012**. Deshidratado de mango, pretratado con metabisulfito de sodio, en un secador de charolas giratorias minimizando la degradación de sus propiedades funcionales. VI Simposio Internacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.
- Julián-Loeza A. P., Santos-Sánchez N. F., Valadez-Blanco R., Sánchez-Guzmán B. S., Salas-Coronado R. **2011**. Chemical composition, color, and antioxidant activity of three varieties of *Annona diversifolia* Safford fruits. *Industrial Crops and Products*. 34, 1262-1268.
- Juraga E., Salamon S. B., Herceg Z., Jambrak R. A. **2011**. Application of high intensity ultrasound treatment on *Enterobacteriae* count in milk. *Mljekarstvo*. 61, 125-134.
- Kabiru A. A., Joshua A. A., Raji O.A. **2013**. Effect of slice thickness and temperature on the drying kinetics of mango (*Mangifera Indica*). *International Journal of Research and Reviews in Applied Sciences*. 15, 41-50.

- Kader A. A., **2008**. Parámetros de calidad y estándares de clasificación en mango: Revisión de información disponible y futuras necesidades de investigación. Consilto manejo postcosecha de fruta y vegetales, Kader consulting service, P.O. Box 600. http://www.mango.org/media/30973/estandares_de_calidad_de_mango_reporte_completa.pdf. (Accesado Mayo, 2014)
- Kim Y., Brecht J. K., Talcott S. T. **2007**. Antioxidant phytochemical and fruit quality changes in (*Mangifera indica* L.) following hot water immersion and controlled atmosphere storage. *Food Chemistry*. 105, 1327–34.
- Kittiphoom S., Sutasinee S. **2013**. Mango seed kernel oil its physicochemical properties. *International Food Research Journal*. 20, 1145-1149.
- Koua B. K., Fassinou F. W., Gloaha P., Toure S. **2009**. Mathematical modelling of the thin layer solar drying of banana, mango and cassava. *Energy*. 34, 1594-1602.
- Kubilay G. Mehmet A., Mustafa ö., Saliha E. K., Resat A. **2006**. Antioxidant capacity of fresh, sun- and sulphite-dried Malatya a pricot (*Prunus armeniaca*) assayed by CUPRAC, ABTS/TEAC and Folin methods. *International Journal of Food Science and Technology*. 41, 76-85.
- Lee H., Lee H., Kwon Y., Lee J-H., Kim J., Shin M-K., Kim S-H., Bae H. **2010**. Methyl gallate exhibits potent antitumor activities by inhibiting tumor infiltration of CDA⁺CD25⁺ regulatory T cells. *The Journal of Immunology*. Doi:10.4049/jimmunol.1001373.
- Liu F., Wang Y., Li R., Bi X., Liao X. **2014**. Effects of high hydrostatic pressure and high temperature short time on antioxidant activity, antioxidant compounds and color of mango nectars. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 21, 35-43.
- Maisuthisakul P. **2008**. Antiradical scavenging activity and polyphenolic compounds extracted from Thai mango seed kernels. *Asian Journal of Food and Agro-Industry*. 02, 87-96.
- Maisuthisakul P., Suttajit M., Pongsawatmanit R. **2007**. Assessment of phenolic content and free radical-scavenging capacity of some Thai indigenous plants. *Food Chemistry*. 100, 1409-1418.
- Madsen H. L., Bertelsen G. **1995**. Spices as antioxidants. *Trends Food Science Technology*. 6, 271–7.
- Malheiro R., Rodrigues N., Manzke G., Bento A., Pereira J. A., Casal S. **2013**. The use of olive leaves and tea extracts as effective antioxidant ts against the oxidation of soybean oil under microwave heating. *Industrial Crops and Products*. 44, 37– 43.
- Manthey J. A., Perkins-Veazie P. **2009**. Influences of harvest date and location on the levels of β -carotene, ascorbic acid, total phenols, the in vitro antioxidant capacity, and phenolic profiles of five commercial varieties of mango (*Mangifera indica* L.). *Agriculture Food Chemistry*. 57, 10825-10830.
- Martínez-Valverde I., Periago M. J., Ros G. **2000**. Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. 50, 5-18.
- Masibo M., He Q. **2008**. Major mango polyphenols and their potential significance to human health. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 7, 309-319.
- Masís S. P. **2002**. El mercado de los alimentos funcionales y los nuevos retos para la educación alimentaria-nutricional. *Revista Costarricense de Salud Pública*. 11, 1409-1429.
- Meiping Z., Yongjie L. **2006**. Simple methods for rapid determination of sulfite in food products. *Food Control*. 17, 975-980.

- Meyer R.V. **2004**. Practical High-Performance Liquid Chromatography. Great Britain. British Library Cataloguing in Publication Data.
- Midilli A., Kucuk H., Yapar Z. **2002**. A new model for single-layer drying technology. *Drying Technology*. 20, 1503-1513.
- Montgomery D. **1991**. Diseño y análisis de experimentos. México. Editorial Iberoamericana.
- Nanasombat S., Wimuttigosol P. **2011**. Antimicrobial and antioxidant activity of spice essential oils. *Food Science and Biotechnology*. 20, 45-53.
- Ndawula J., Kabasa J. D., Byaruhanga Y. B. **2004**. Alterations in fruit and vegetable β -carotene y vitamina C content caused by open-sun drying, visqueen-covered and polyethylene-covered solar-dryers. *African Health Science*. 4, 125-130.
- NOM-130-SSA1-1995, Bienes y servicios. Alimentos envasados en recipientes de cierres herméticos y sometidos a tratamiento térmico. Disposiciones y especificaciones sanitarias.
- Nieto A., Castro M. A., Alzamora S. M. **2001**. Kinetics of moisture transfer during air drying of blanched and/or osmotically dehydrated mango. *Journal of Food Engineering*. 50, 175-185.
- NMX-F-102-S-1978. Determinación de la acidez titulable en productos elaborados a partir de frutas y hortalizas. Norma Mexicana. Dirección general de normas.
- Nursten H. E. **2005**. The Maillard reaction chemistry, biochemistry, and implications. *Royal Society of Chemistry*. DIO:10.1016/j. Ijbiomac.2007.03.007.
- Ortíz R. R., Martínez Y., Hernández R. **2006**. Técnicas electroanalíticas. Parte II voltamperometría. Universidad de los Andes Facultad de Ciencias. Mérida.
- Poovarodom S., Haruenkit R., Vearasilp S., Namiesnik J., Cvikrová M., Martincová O., Ezra A., Suhaj M., Ruamsuke P., Gorinstein S. **2010**. Comparative characterisation of durian, mango and avocado. *International Journal of Food Science and Technology*. 45, 921-929.
- Quevedo M. N., Pérez-Bello L. A. **2006**. Producción de almidones pregelatinizados a partir de mezclas de almidones de fuentes no convencionales usando un extrusor de doble tornillo. Tesis de maestría, Instituto Politécnico Nacional.
- Ribeiro-Rocha S. M., Queiroz J. H., Queiroz-Ribeiro M. E. L., Campos F. M., Sant' ana M. P. **2007**. Antioxidant in Mango (*Mangifera indica* L.) Pulp. *Plant Foods for Human Nutrition*. 62, 13-17.
- Ribeiro-Rocha S. M., Barbosa A. L. C., Queiroz J. H., Knödler M., Schieber A. **2008**. Phenolic compounds and antioxidant capacity of Brazilian mango (*Mangifera indica* L.) varieties. *Food Chemistry*. 110, 620-626.
- Ribeiro-Rocha S. M., Schieber A. **2010**. Chapter 34-Bioactive compounds in mango (*Mangifera indica* L.). *Bioactive Foods in Promoting Health, Fruits and Vegetables*. 507-523.
- Robles-Sánchez R. M., Rojas-Graü M. A., Odriozola-Serrano I., Gonzáles –Aguilar G. A., Martín-Belloso O. **2009**. Effect of minimal processing on bioactive compounds and antioxidante activity of fresh-cut 'kent' mango (*Mangifera indica* L.). *Postharvest Biology and Technology*. 51, 384-390.
- Rodriguez-Amaya D. B. **2001**. A guide to carotenoids analysis in foods. OMNI Research, ILSI Human Nutrition Institute, One Thomas Circle, N. W., Washington, D.C., USA.
- Ruiz-Montañez G., Ragazzo-Sánchez J. A., Calderón-Santoyo M., Velázquez de la Cruz G., Ramírez de León J. A., Navarro-Ocaña A. **2014**. Evaluation of extraction methods for

- preparative scale obtention of mangiferin and lupeol from mango peels (*Mangifera indica* L.). *Food Chemistry*. 159, 267-272.
- Sacilik K., Keskin E. A., Konuralp R. **2006**. Mathematical modelling of solar tunnel drying of thin layer organic tomato. *Journal of Food Engineering*. 73, 231-238.
- Sadegh C., Schreck R. P. **2003**. The spectroscopic determination of aqueous sulfite using Ellman's reagent. *Academy for the Advancement of Science and Technology*. 8, 39-43.
- Sánchez-Moreno C., Larrauri A. J., Saura-Calixto F. **1998**. A procedure to Measure the Antiradical Efficiency of Polyphenols. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 76, 270-276.
- Santos-Sánchez N. F., Valadez-Blanco R., Gómez-Gómez M. S., Pérez-Herrera A., Salas-Coronado R. **2012**. Effect of rotating tray drying on antioxidant components, color and rehydration ratio of tomato saladette slices. *LTW-Food Science and Technology*. 46, 298-304.
- Sahu S., Das K. B., Pradhan J., Mohapatra B. C., Mishra B. K., Sarangi N. **2007**. Effect of *Mangifera Indica* kernel as a feed additive on immunity and resistance to *Aeromonas Hydrophila* in *Labes Rohita* fingerlings. *Fish & Shellfish Immunology*. 23, 109-118.
- Santiago G. P., Yahia K. E., Lagunez R. R., Ruiz V. J., Benito B. P., Matadamas O. P., Arellanes J. N., Arce G. F. **2000**. Tecnologías integradas para el manejo postcosecha del mango Oro (*Mangifera indica* L). Memoria del primer seminario de investigación científica y tecnológica sobre el Istmo de los estados de Veracruz, Chiapas, Tabasco y Oaxaca. <http://www.ciesas-golfo.edu.mx/istmo/docs/ponencias/tecnologias01.htm>. (Accesado Noviembre, 2013).
- Santaella S. W y Bruna A. Índices de madurez y momento óptimo de correlación con el almacenamiento refrigerado del melocotón. <http://www.horticom.com/pd/imagenes/73/161/73161.pdf>. (Accesado Septiembre, 2013)
- Schieber A., Ullrich W., Carle R. **2000**. Characterization of polyphenols in mango puree concentrate by HPLC with diode array and mass spectrometric detection. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 1, 161-166.
- SIAP. Producción de mango. **2012**. http://www.siap.gob.mx/index.php?option=com_wrapper&view=wrapper&Itemid=350. (Accesado Febrero, 2013).
- Siddiq M., Sogi D. S., Dolan K. D. **2013**. Antioxidant properties, total phenolics, and quality of fresh-cut 'Tommy Atkins' mangoes as affected by different pre-treatments. *LWT-Food Science and Technology*. 1,7.
- Sogi S. D., Siddiq M., Greiby I., Dolan D. K. **2013**. Total phenolics, antioxidant activity, and functional properties of 'Tommy Atkins' mango peel and kernel as affected by drying methods. *Food Chemistry*. 141, 2649-2655.
- Soong Y., Barlow P. **2006**. Quantification of gallic acid and ellagic acid from longan (*Diospyros longan* Lour.) seed and mango (*Mangifera indica* L.) kernel and their effects on antioxidant activity. *Food Chemistry*. 97, 524-30.
- Tharanathan R. N., Yashoda H. M., Prabha T. N. **2006**. Mango (*Mangifera indica* L), "The king of fruits"-An overview. *Food Reviews International*. 22, 95-123.
- Torregrosa V. F. **2006**. Determinación de vitamina C y carotenoides en zumos de frutas y hortalizas frescos, tratados por calor por pulsos eléctricos de alta intensidad (PEAI). Servei publicacions. I.S.B.N. 84-370-6487-2. España.
- US Federal Register (**1988**). Sulfiting agents in standardized foods labeling requirements; proposed rule. Washington, US Government Printing Office.

- Vasco C., Ruales J., Kamal-Eldin A. **2008**. Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruit from Ecuador. *Food Chemistry*. 111, 816-823.
- Vega-Mercado H., Góngora-Nieto M. M., Barbosa-Cánovas, G. V. **2001**. Advances in dehydration of foods. *Journal of Food Engineering*. 49, 271-289.
- Villa-Corrales L., Flores-Prieto J. J., Xamán-Villaseñor J. P., García-Hernández E. **2010**. Numerical and experimental analysis of heat and moisture transfer during drying of Ataulfo mango. *Journal of Food Engineering*. 98, 198-206.
- Villegas-Santiago J., Calderon-Santoyo M., Ragazzo-Sánchez A., Salgado-Cervantes M. A., Luna-Solano G. **2011**. Fluidized bed and tray drying of thinly sliced mango (*Mangifera indica*) pretreated with ascorbic and citric acid. *International Journal of Food Science and Technology*. 46, 296-1302.
- Whang K. W., Park S. H., Ham I., Oh M., Namkoong H., Kim K. H., Hwang W. D., Hur Y. S., Kim E. T., Park G.Y., Kim Jae-Ryong., Kim W. J. **2005**. Methyl gallate and chemicals structurally related to methyl gallate protect human umbilical vein endothelial cells from oxidative stress. *EXPERIMENTAL and MOLECULAR MEDICINE*. 37, 343-352.
- Wedzicha B. L., Belliun, Goddard S. J. **1991**. Inhibition of browning by sulfites. *In Nutritional and Toxicological Consequences of Food Processing*. 289, 217-236.
- Wrostdald R. E., Acree T. E., Decker E. A., Penner M. H., Reid D. S., Schwart S. J., Shoemaker C. F., Smith D., Haboken P. S., **2005**. *Wiley-Interscience. Handbook of Food Analytical Chemistry*, 2. New Jersey.
- Zou K., Teng J., Huang L., Dai X., Wei B. **2013**. Effect of osmotic pretreatment on quality of mango chips by explosion puffing drying. *LTW-Food Science and Technology*. 51, 253-259.
- Zuluaga J. D., Cortes-Rodríguez M., Rodríguez-Sandoval E. **2010**. Evaluación de las características físicas de mango deshidratado aplicando secado por aire caliente y deshidratación osmótica. *Revista de la Facultad de Ingeniería U.C.V.* 25, 127-135.

11. APÉNDICES

Apéndice 11.1. Generación de la curva de MR (Razón de humedad) vs F (número de Fourier).

Para láminas, se utiliza la ecuación de Sherwood y Newman (Foust *et al.*, 1987)

$$MR = \frac{MR_t - MR^*}{MR_o - MR^*} = \sum_{n=0}^{\infty} \frac{8}{\pi^2(2n+1)} \exp\left[-(2n+1)^2 \frac{\pi^2}{4} F\right] \quad (2)$$

Donde:

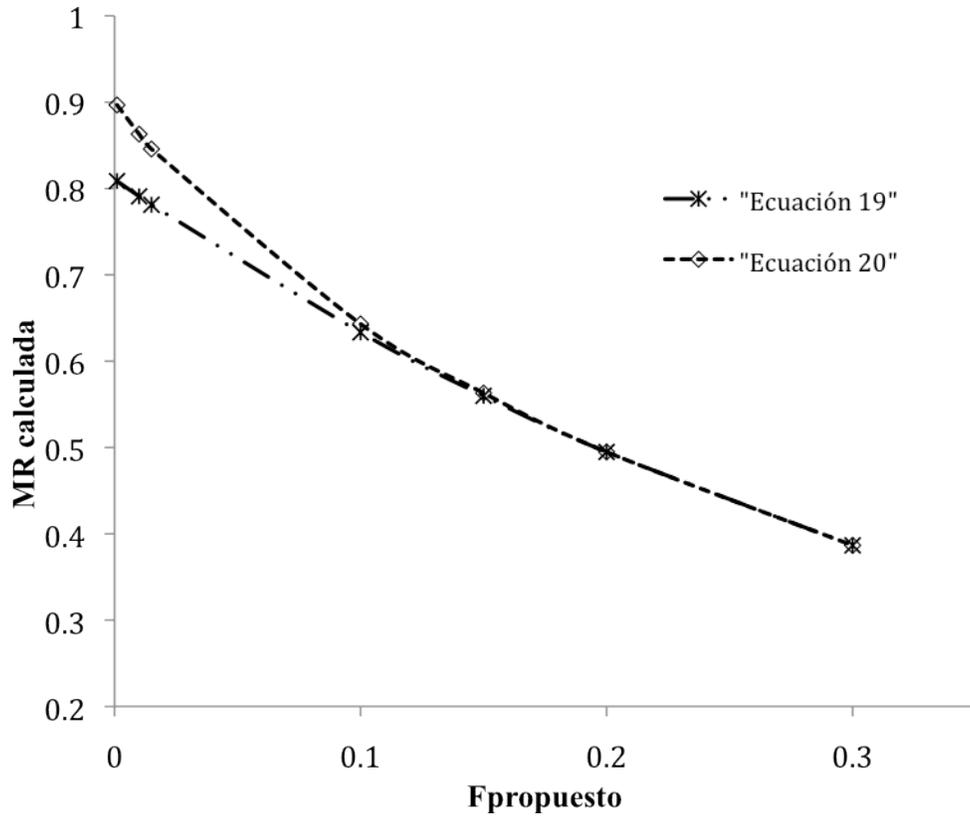
$$F = \frac{D_{\text{eff}}^* t}{L^2}$$

Para determinar el efecto de las series sobre los valores resultantes de MR, se aplicaron valores de $n = 0$ y 1 en la Ecuación 2, y a partir de esto se obtuvieron las Ecuaciones 19 y 20.

$$MR = \frac{8}{\pi^2} \exp\left[-\frac{\pi^2}{4} F\right] \quad (19)$$

$$MR = \frac{8}{9\pi^2} \exp\left[-\frac{9\pi^2}{4} F\right] + \frac{8}{\pi^2} \exp\left[-\frac{\pi^2}{4} F\right] \quad (20)$$

Posteriormente, para realizar un graficado de MRcalculado vs F se propusieron siete valores para F (0.001, 0.01, 0.015, 0.1, 0.15, 0.2 y 0.3) (Aguerre *et al.*, 1985). Los valores propuestos cubren el intervalo de MR experimentales reportados para el mango. Los cuales son sustituidos en las Ecuaciones 19 y 20, para obtener valores de MRcalculado.



En la gráfica se observa que para $F \geq 0.1$ los valores de MRcalculada son iguales independientemente de la ecuación utilizada (Ecuación 19 y 20). Por lo tanto, para el estudio se puede utilizar la ecuación 19, sin producir variaciones significativas en los resultados.

Apéndice 11.2. Integración de la Ecuación 7.

$$\frac{dMR}{dt} = -k(MR - MR^*) \quad (7)$$

$$\int_{MR_0}^{MR_t} \frac{dMR}{(MR - MR^*)} = -k \int_0^t dt$$

$$\ln(MR - MR^*) \Big|_{MR_0}^{MR_t} = -k \Big|_0^t$$

$$\ln(MR_t - MR^*) - \ln(MR_0 - MR^*) = -kt$$

$$\ln\left(\frac{MR_t - MR^*}{MR_0 - MR^*}\right) = -kt$$

$$\left(\frac{MR_t - MR^*}{MR_0 - MR^*}\right) = e^{-kt}$$

Apéndice 11.3. Modelos matemáticos para las curvas de deshidratado.

Nº de Modelo	Nombre del modelo	Ecuación del modelo
1 ^(a,b,c)	Lewis	$MR = \exp(-kt)$
2 ^(a,b,c)	Page	$MR = \exp(-kt^n)$
3 ^(a,b,c)	Page modificado	$MR = \exp(-kt)^n$
4 ^(a,b,c)	Handerson y Pabis	$MR = a \cdot \exp(-kt)$
5 ^(a,c)	Midilli	$MR = a \cdot \exp(-kt^n) + bt$
6 ^(a)	Simplificado de Fick	$MR = a \cdot \exp(-k(t/L^2))$
7 ^(a)	Aproximación de la difusión	$MR = a \cdot \exp(-kt) + (1-a) \exp(-b \cdot kt)$
8 ^(a)	Logístico	$MR = b / (1 + a \cdot \exp(kt))$
9 ^(a,c)	De dos términos	$MR = a \cdot \exp(-k_1t) + b \cdot \exp(-k_2t)$
10 ^(a)	Thompson	$t = a \cdot \ln MR + b \cdot (\ln MR)^2$
11 ^(b,c)	Wang y Singh	$MR = 1 + at + bt^2$
12 ^(b,c)	Logarítmico	$MR = a \cdot \exp(-kt) + C$
13 ^(b,c)	Weibull	$MR = \exp[-(t/\beta)^n]$
14 ^(c)	Silva	$MR = \exp(-kt-b)$
15 ^(c)	Parabólico	$MR = a + bt + ct^2$
16 ^(c)	Dinani	$MR = a \cdot \exp(-(t-b/c)^2)$

- a. Murthy K. P. T y Manohar B. **2013**. Hot air drying characteristics of mango ginger: Prediction of drying kinetics by mathematical modeling and artificial neural network. *Journal of Food Science and Technology*. DOI 10.1007/s 13197-013-0941-y.
- b. Koua B. K., Fassinou F. W., Gloaha P., Toure S. **2009**. Mathematical modelling of the thin layer solar drying of banana, mango and cassava. *Energy*. 34, 1594-1602.
- c. Dinani T. S., Hamdami N., Shahedi M., Havet M. **2014**. Mathematical modeling of hot air/ electrohydrodynamic (EHD) drying kinetics of mushroom slices. *Energy Conversion and Management*. 86, 70-80.

Apéndice 11.4. a) Mangos var. Tommy Atkins, b) escaldado de los mangos a temperatura de ebullición durante 1 minuto, c) rebanadas de mango de 3.4 ± 0.2 mm de grosor, d) semilla de mango Tommy Atkins.

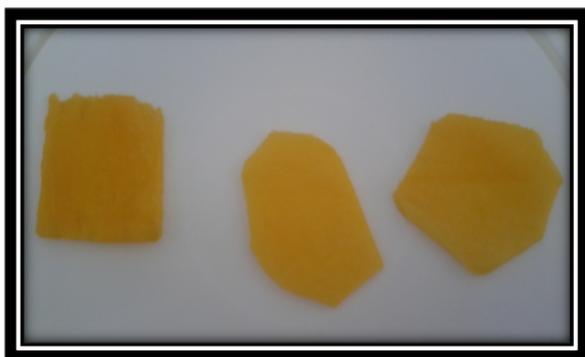
a)



b)



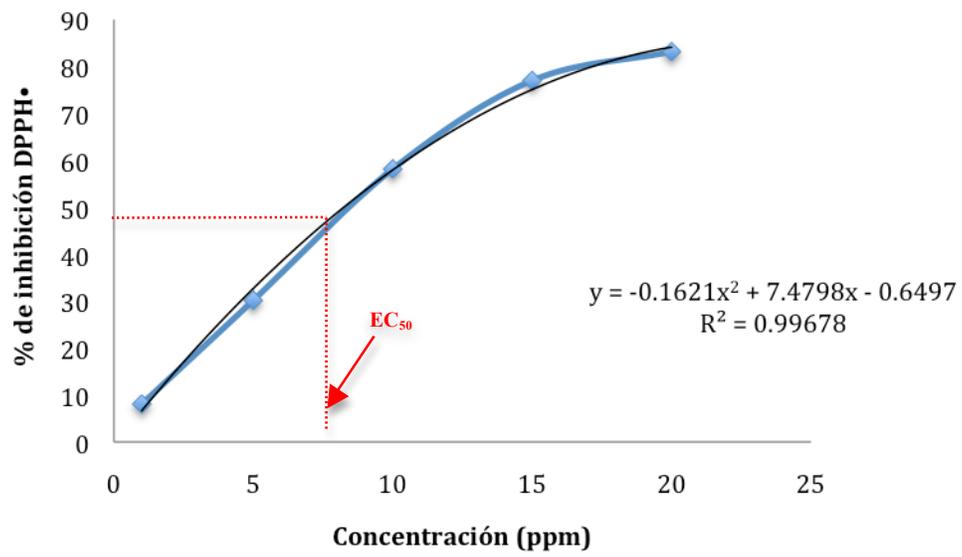
c)



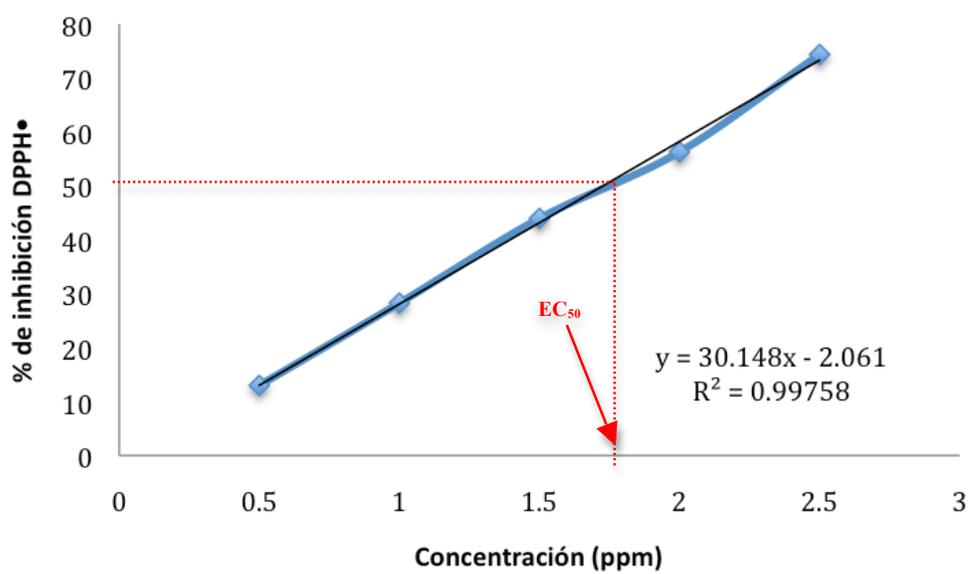
d)



Apéndice 11.5. Curva de los estándares del extracto de la semilla de mango para la cuantificación del porcentaje de inhibición del DPPH•.



Apéndice 11.6. Curva de calibración de estándares de ácido gálico para la cuantificación del porcentaje de inhibición DPPH•.



Apéndice 11.7. Determinación de la primera derivada del $\Delta\%$ de DPPH• remanente para obtener graficamente a T_{EC50} para el extracto de mango (Δt = media de los dos primeros tiempos y $\Delta\%rem$ = media de los dos primeros % de DPPH• remanente).

		PRIMERA DERIVADA	
Tiempo	%remanente	Tiempo	$\Delta\%$ de DPPH• rem/ Δt
0	62.03		
0.3	60.73	0.15	4.333
1	59.56	0.65	1.671
1.3	58.73	1.15	2.767
2.0	58.05	1.65	0.971
2.3	57.55	2.15	1.667
3.0	56.92	2.65	0.900
3.3	56.5	3.15	1.400
4.0	56.26	3.65	0.343
4.3	55.67	4.15	1.967
5.0	55.24	4.65	0.614
5.3	54.91	5.15	1.100
6.0	54.37	5.65	0.771
6.3	54.29	6.15	0.267
7.0	53.9	6.65	0.557
7.3	53.56	7.15	1.133
8.0	53.33	7.65	0.329
8.3	52.94	8.15	1.300
9.0	52.66	8.65	0.400
9.3	52.42	9.15	0.800
10.0	52.09	9.65	0.471
10.3	51.8	10.15	0.967
11.0	51.71	10.65	0.129
11.3	51.42	11.15	0.967
12.0	51.14	11.65	0.400
12.3	50.85	12.15	0.967
13.0	50.81	12.65	0.057
13.3	50.47	13.15	1.133
14.0	50.28	13.65	0.271
14.3	50.19	14.15	0.300

Apéndice 11.8. Pretratamientos para las rebanadas de mango. a) extracto de semilla de mango al 1.44%, b) extracto de semilla de mango al 1.44% y $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ al 0.5%, c) $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ al 0.5%.

a)



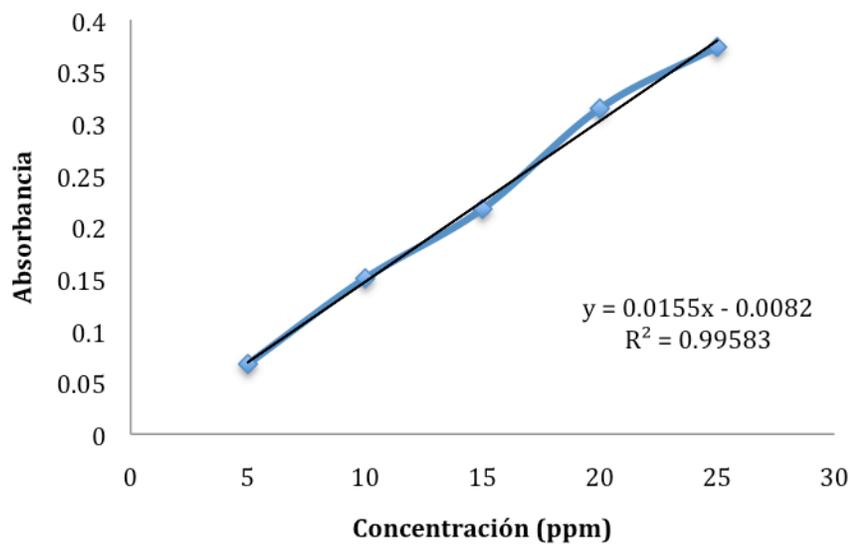
b)



c)



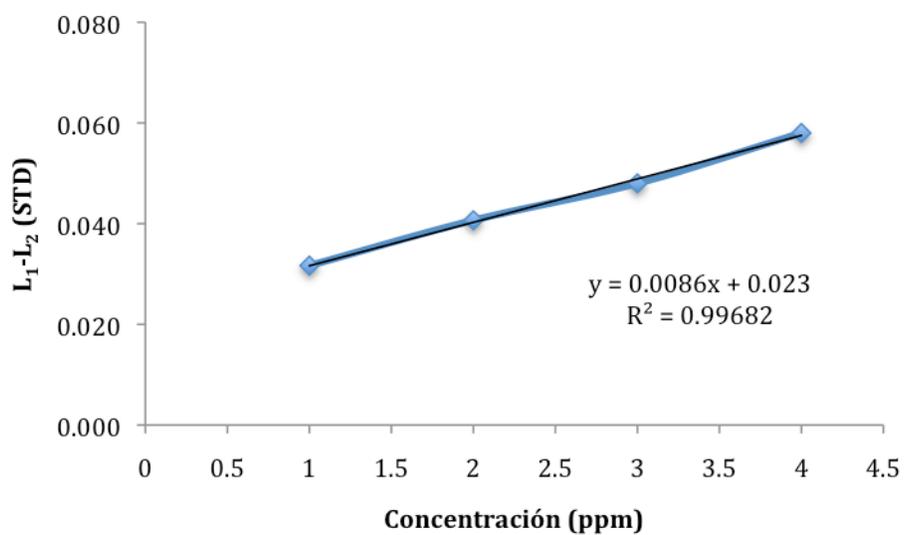
Apéndice 11.9. Curva de calibración de estándares de ácido gálico para la cuantificación de fenoles totales.



Apéndice 11.10. Preparación de las mezclas de reacción para la determinación de la vitamina C.

Medición de la absorbancia	Procedimiento
Extractos (SLP) ó estándares (STD)	Colocar 40 μ L de extracto o del estándar con 40 μ L de buffer de acetato y 40 μ L de DCIP en una microplaca
Blanco del extracto (BLK SLP)	Colocar 40 μ L del extracto con 40 μ L de buffer de acetato y 40 μ L de agua destilada.
DCIP (DCIP)	Colocar 40 μ L de agua destilada con 40 μ L de buffer de acetato y 40 μ L de DCIP
Blanco del DCIP (BLK DCIP)	Colocar 40 μ L de buffer de acetato más 80 μ L de agua destilada.

Apéndice 11.11. Curva de calibración del estándar de ácido ascórbico para la cuantificación de vitamina C.



Apéndice 11.12. Obtención de la Ecuación 16, para determinar los carotenos (Wrosta et al., 2005).

De la ecuación de Lambert-Beer (Ecuación 21)

$$A = \epsilon * C * l \rightarrow C = \frac{A}{\epsilon * l} \quad (21)$$

donde:

A= Absorbancia

ϵ = Absortividad molar para el β -caroteno ($139 \text{ nM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$)

C= Concentración del soluto ($\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)

l=Longitud de la cubeta (1 cm)

Para utilizar la ecuación anterior, se utiliza la absortividad molar del β -caroteno ($\epsilon_{\beta\text{-caroteno}} = 139 \text{ nM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$) y la absorbancia se lee a 450 nm (A_{450}). El equipo utilizado para leer la absorbancia fue el Perkin- Elmer, lambda 35 que funciona con cubetas de 1 cm de camino de Haz. Por lo tanto la ecuación de Lambert-Beer se convierte en:

$$\begin{aligned} [\beta - \text{caroteno}] &= \frac{A_{450}}{\epsilon_{\beta - \text{caroteno}} * l} & (22) \\ &= \frac{A_{450}}{(139 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1})(1 \text{ cm})} \\ &= \frac{A_{450}}{139 \text{ mM}^{-1}} \end{aligned}$$

Posteriormente, se realiza una sustitución de unidades para expresar la concentración en términos de g de β -caroteno/L disolución. Para obtener la ecuación se utiliza el peso molecular del β -caroteno=537 g•mol⁻¹.

$$\begin{aligned}
 [\beta - \text{caroteno}] &= \frac{A_{450}}{\left[139 \frac{L_{\text{disolución}}}{\text{moles}_{\beta - \text{caroteno}}} \right] \left[\frac{1000 \text{ mmoles}}{1 \text{ mol}} \right]} \\
 &= \frac{A_{450}}{\left[139000 \frac{L_{\text{disolución}}}{\text{moles}_{\beta - \text{caroteno}}} \right] \left[\frac{1 \text{ mol}_{\beta - \text{caroteno}}}{537 \text{ g}} \right]} \\
 &= \frac{A_{450}}{258.85} \left[\frac{\text{g de } \beta - \text{caroteno}}{L \text{ disolución}} \right] \tag{23}
 \end{aligned}$$

Expresando la Ecuación 23 en mg de β -caroteno/100 g de muestra.

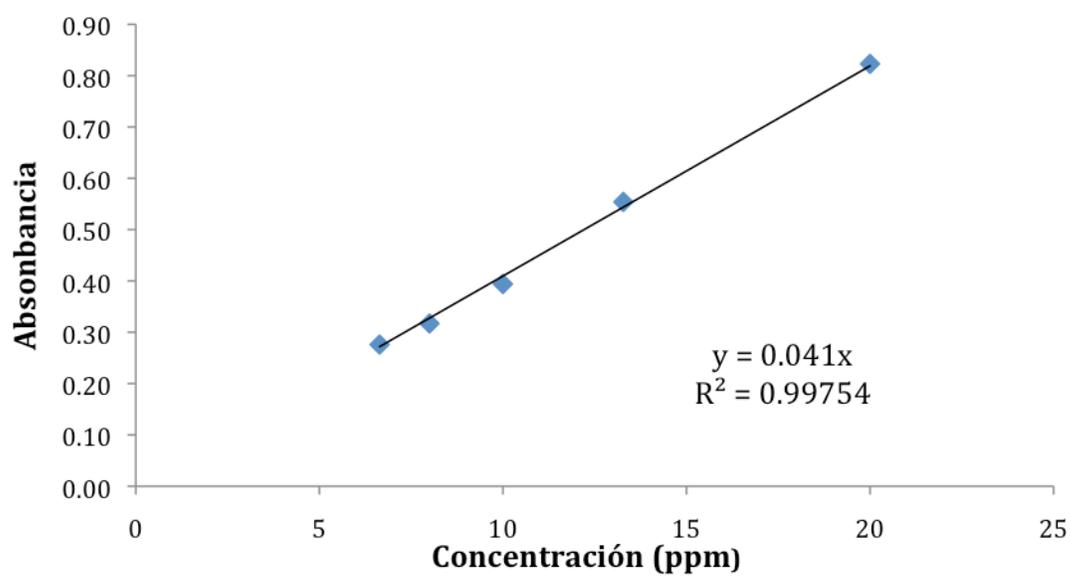
Las alícuotas de las muestras deshidratadas se prepararon utilizando 0.3 g de muestra en 10 mL de disolución. Mientras que en las muestras frescas se utilizó 1 g de muestra en 10 mL de disolución.

$$\begin{aligned}
 [\beta - \text{caroteno}] &= \frac{A_{450}}{258.85} \left[\frac{\text{g de } \beta - \text{caroteno}}{L \text{ disolución}} \right] \\
 &= \frac{A_{450}}{258.85} \left[\frac{\text{mg de } \beta - \text{caroteno}}{\text{mL disolución}} \right] \left[\frac{V_{\text{disolución}}}{g_{\text{muestra}}} \right]
 \end{aligned}$$

Para 100g de muestra

$$[\beta - \text{caroteno}] = \frac{A_{450}}{258.85} \left[\frac{\text{mg de } \beta - \text{caroteno}}{\text{mL disolución}} \right] \left[\frac{V_{\text{disolución}}}{100g_{\text{muestra}}} \right] * 100 \tag{16}$$

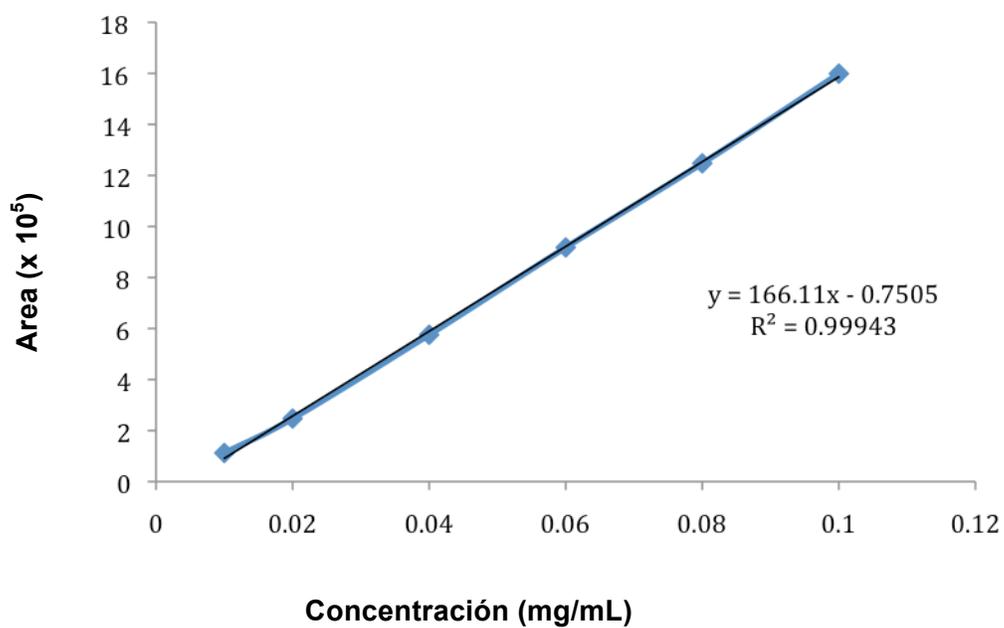
Apéndice 11.13. Curva de calibración de estándares de metabisulfito de sodio para la cuantificación de sulfitos.



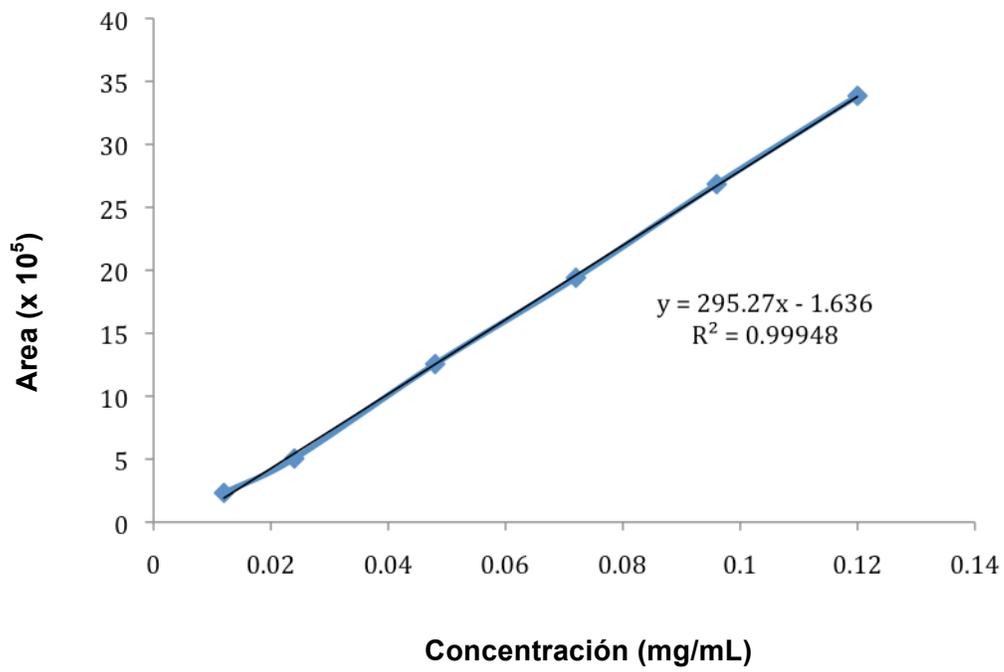
Apéndice 11.14. Preparación de las mezclas de reacción para la determinación de sulfitos.

Medición de la absorbancia	Procedimiento
Extractos (SLP) ó estándares (STD)	Colocar 60 μ L del extracto ó del estándar y mezclar con 60 μ L de la solución de DTNB.
Blanco del extracto (BLK SLP)	Colocar 60 μ L del extracto ó estándar y mezclar con 60 μ L de Tris.
Blanco del DTNB (BLK DTNB)	Colocar 60 μ L de DTNB y mezclar con 60 μ L de EDTA

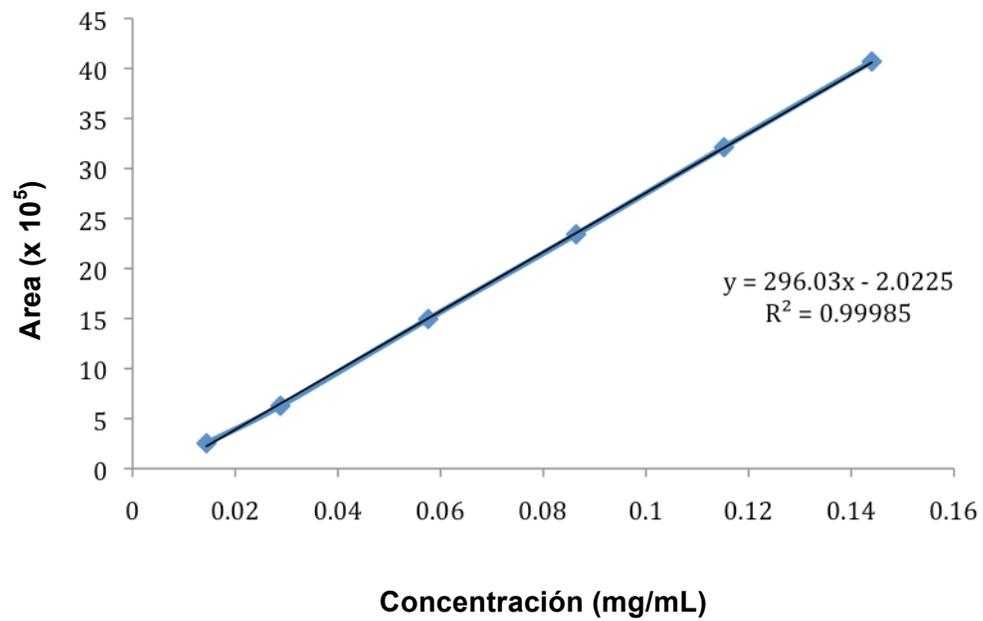
Apéndice 11.15. Curva de calibración de mangiferina a 365 nm para su cuantificación por HPLC.



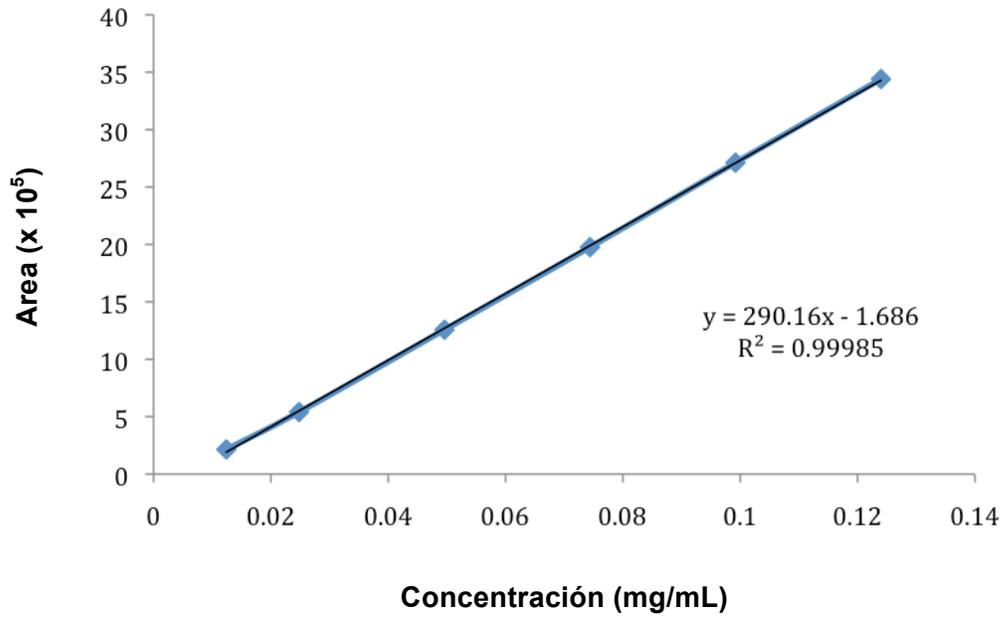
Apéndice 11.16. Curva de calibración de ácido cafeico a 280 nm para su cuantificación por HPLC.



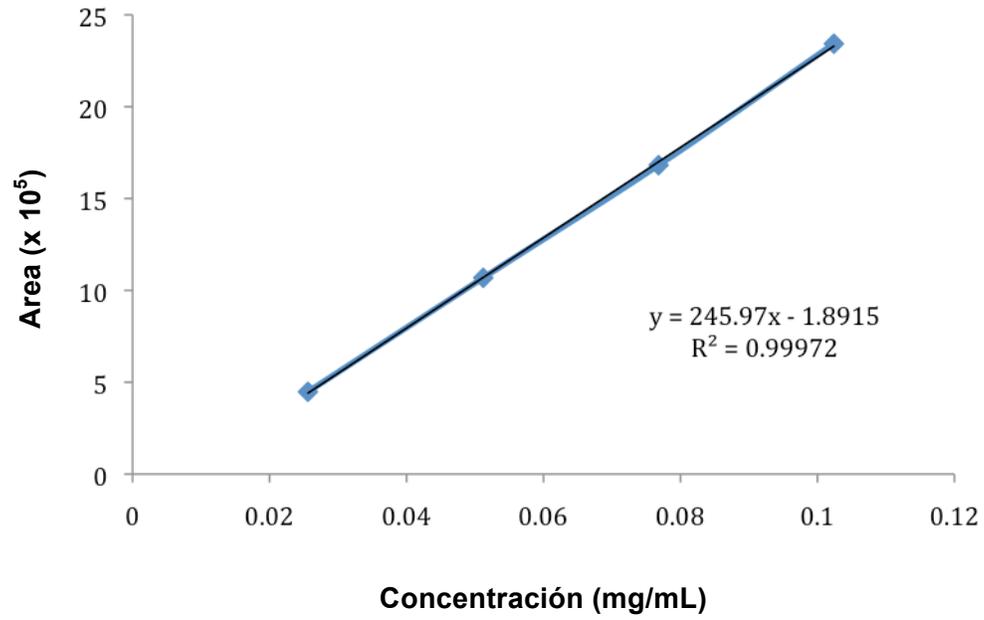
Apéndice 11.17. Curva de calibración de ácido gálico a 280 nm para su cuantificación por HPLC.



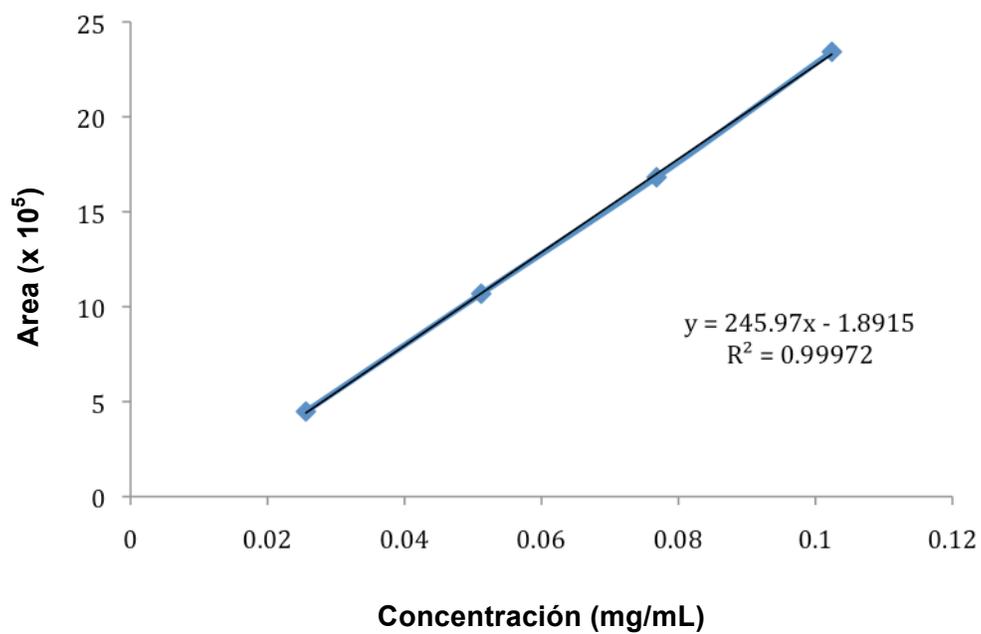
Apéndice 11.18. Curva de calibración de galato de metilo a 280 nm para su cuantificación por HPLC.



Apéndice 11.19. Curva de calibración de ácido ferúlico a 280 nm para su cuantificación por HPLC.



Apéndice 11.20. Curva de calibración de ácido *p*-coumarico a 280 nm para su cuantificación por HPLC.



12. ANEXOS

Anexo 12.1. Tabla de contenido de ácidos fenólicos en frutas ($\mu\text{g/g}$ peso seco) para el mango var. Nam Dok Mai N° 4.

Compuestos	Mango	Agucate	Durián
Ácido gálico	53.41 \pm 2.7	-	-
Ácido protocatéquico	0.39 \pm 0.02	0.37 \pm 0.02	-
Ácido p-hidroxibenzoico	21.32 \pm 1.1	5.38 \pm 0.3	2.21 \pm 0.1
Ácido m-hidroxibenzoico	-	8.63 \pm 0.4	-
Ácido vanilínico	16.74 \pm 0.8	5.61 \pm 0.3	2.54 \pm 0.1
Ácido cafeico	0.96 \pm 0.05	2.46 \pm 0.1	5.49 \pm 0.2
Ácido ferúlico	14.87 \pm 0.7	9.38 \pm 0.5	18.29 \pm 0.9
Ácido p-cumárico	-	-	2.88 \pm 0.1
Ácido sinápico	7.55 \pm 0.3	1.93 \pm 0.05	-
Ácido anísico	-	0.25 \pm 0.01	0.035 \pm 0.002
Quercetina	1.76 \pm 0.05	0.40 \pm 0.02	0.34 \pm 0.02
Apigenina	57.55 \pm 2.8	15.59 \pm 0.7	Trazas

Poovarodom S., Haruenkit R., Vearasilp S., Namiesnik J., Cvikrová M., Martincová O., Ezra A., Suhaj M., Ruamsuke P., Gorinstein S. **2010**. Comparative characterisation of durian, mango and avocado. *International Journal of Food Science and Technology*. 45, 921-929.

Anexo 12.2. Parámetros de madurez para el mango Tommy Atkins.

**TOMMY
ATKINS**

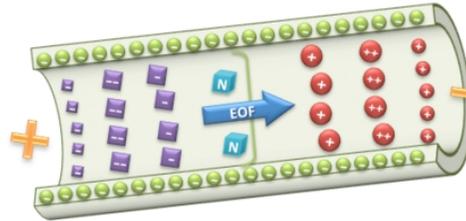


Intervalo de color					
Interior de la pulpa					
Madurez	Estado 1	Estado 2	Estado 3	Estado 4	Estado 5
°Brix	7-9	8-11	9-11	10-13	12-15

Brecht J. K. 2010. Mango postharvest best management practices manual. University of Florida. Pag. 58.

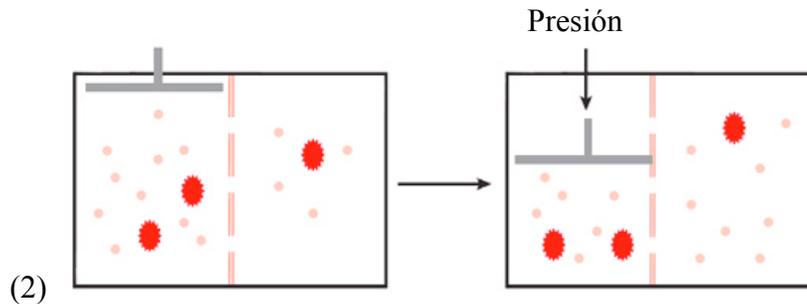
Anexo 12.3. Definición y esquema de migración, convección y difusión.

MIGRACIÓN: Movimiento de especies por diferencia de carga. Un ejemplo de la migración es la electroforesis.



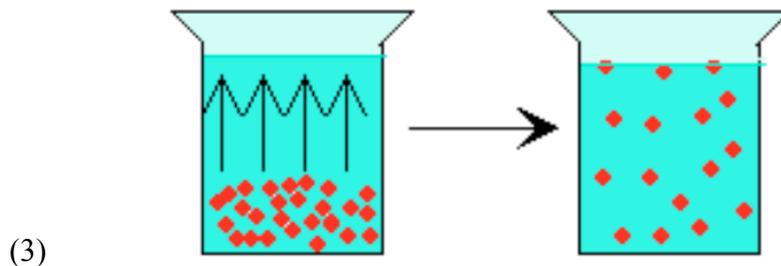
(1)

CONVECCIÓN: Movimiento de la materia por cambios físicos.



(2)

DIFUSIÓN: Movimiento de las especies por gradiente de concentración. Este proceso se debe al constante movimiento en que se encuentran las partículas de líquidos y gases.



(3)

(1) <http://www.micruxfluidic.com/es/tecnologia.html>

(2) <http://nefrologiadigital.revistanefrologia.com/modules.php?name=libro&op=viewCap&idpublication=1&idedition=13&idcapitulo=70>

(3) <http://ciencia-basica-experimental.net/1er-curso/carlos.htm>

Anexo 12.4. Implementación de un método para la cuantificación de sulfitos.

MÉTODO PARA LA CUANTIFICACIÓN DE SULFITOS EN ALIMENTOS COMERCIALES.

Yair J Cruz-Morán^a, Analleli Jiménez-Durán^a, Raúl Salas-Coronado^a

^aUniversidad Tecnológica de la Mixteca (UTM). Carretera Acatlima km. 2.5, Huajuapán de León Oaxaca, 69000 México. Instalaciones de los laboratorios de Ciencias Químico-Biológicas, UTM, México. yaircruzmoran@gmail.com.

RESUMEN

En el presente trabajo se realizó la implementación de un método para la cuantificación de sulfitos utilizando un lector de microplacas Biotek ELX-808 aplicado a muestras de alimentos comerciales empleando el reactivo de Ellman (5-(3-Carboxy-4-nitrophenyl)disulfanyl-2-nitrobenzoic acid), y para la validación del método se determinó el porcentaje de recuperación. Las muestras empleadas fueron vino blanco y tinto, néctar de mango y manzana así como rebanadas de mango deshidratadas. Los resultados obtenidos para las muestras de vino blanco y rebanadas de mango (146.04 ± 7.09 y 34.66 ± 1.81 ppm respectivamente) fueron superiores a los límites establecidos por la normatividad internacional.

Palabras clave: sulfitos, implementación de método, muestras de alimentos.

Abreviaturas: NM, Néctar de Manzana; NMa, Néctar de Mango; VB, Vino Blanco; VT, Vino Tinto y RM, Rebanadas de Mango.

1. INTRODUCCIÓN

Los aniones sulfito (SO_3^{2-}) tienen una importancia relevante en el procesamiento de alimentos. Estos se utilizan en diversos procesos de producción de alimentos debido a que tienen propiedades antioxidantes, blanqueadoras, secuestrantes de metales, antimicrobianas y como acondicionador de masa (1). En la industria de los vinos se utilizan para inhibir o controlar el crecimiento de levaduras. También se emplean para prevenir el deterioro de camarones, pasas, papas fritas, lechuga y otros vegetales frescos (2).

El uso de sulfitos en alimentos está regulado debido a que se ha reportado que su consumo está relacionado con reacciones alérgicas, particularmente con algunas repuestas asmáticas (3). El alimentos que contiene sulfitos debe mencionar en su etiqueta la presencia de este aditivo para informar a los consumidores que son alérgicos a los sulfitos. En la literatura se han reportado estudios que muestran casos en los que consumidores habituales de vino han presentado dolores de cabeza por consumir estos productos que contienen sulfitos debido a que en muchas de los casos los consumidores no saben que son alérgicos a este tipo de compuestos (4).

En México la norma que regula el uso de SO_3^{2-} como aditivo en alimentos es la NOM-130-SSA1-1995. La concentración máxima permitida de SO_3^{2-} es de 100 ppm de producto (5). Por un acuerdo firmado en julio del 2012, en México se permite una concentración máxima de SO_3^{2-} de 350 ppm para el caso de bebidas alcohólicas, de 100 ppm para el caso de néctares de fruta y de 100 ppm para el caso de conservas de fruta (1). Mientras tanto en países como China el uso de este tipo de aditivos en alimentos está limitado y controlado (9). Organismos a nivel internacional tales como WHO (World Health Organization) afirman que la ingesta diaria aceptable de dióxido de azufre es de 0.7 mg SO_3^{2-} /kg de peso corporal (11). Por otra parte, la FDA desde 1986 ha exigido que cualquier bebida o alimento que tenga una concentración de sulfitos mayor de 10 SO_3^{2-} /kg de producto sea mencionada en la etiqueta.

En la actualidad existen métodos avalados por la AOAC para la determinación de la concentración total de SO_3^{-2} en alimentos y bebidas. Entre estos se encuentra el método optimizado de Monier-Williams (Método 990.28, AOAC). Este método demanda mucho tiempo, mano de obra y además pueden presentarse falsos positivos en los resultados. Otro método aprobado por la AOAC (Método 990.31, AOAC), emplea soluciones alcalinas, seguido de una cromatografía de exclusión iónica con detección amperométrica. Este método tiene la desventaja de tener errores en la cuantificación, debido a problemas de calibración del equipo (3).

Actualmente se han desarrollado diversas metodologías alternativas a las de la AOAC para cuantificar sulfitos en alimentos. Una es el caso del análisis de inyección de flujos (FIA), el cual está formado por dos etapas: una es la extracción de los sulfitos a un medio líquido y la otra etapa consiste en inyectar el extracto líquido para la detección del analito (7).

Por todo lo anterior, en este trabajo se propuso implementar un método para cuantificar SO_3^{-2} en alimentos procesados, empleando el reactivo de Ellman y el método de fortificación para la validación del método mediante la determinación del porcentaje de recuperación de SO_3^{-2} . Cabe señalar que de manera adicional se realizó un estudio para determinar las mejores condiciones de tratamiento de la muestra, para obtener resultados reproducibles y buenos rendimientos de recuperación de sulfitos.

2. METODOLOGÍA

2.1. Muestras.

Se utilizaron dos néctares de frutas, uno de mango y otro de manzana de la marca Jugos del Valle® con Número de lote 018 1315 631 para el néctar de mango y 043 1315 631 para el néctar de manzana.; así como vino blanco marca Blue Nun® (lote LF712513) producto de origen Alemán, vino tinto marca F. Chauvenet® (lote LA7-2152) de origen Mexicano y rebanadas de mango deshidratadas (adquiridas a granel en el supermercado Chedraui® con fecha de empaque del 28 de Diciembre de 2013).

2.2. Soluciones empleadas.

Las soluciones que se emplearon para el tratamiento de las muestras y cuantificación de sulfitos fueron las siguientes: EDTA (sal disodica etilendiamino tetracético) (0.1 mM), buffer Tris pH 8 (1000 ppm), DTNB (3×10^{-4} M) y soluciones stock de metabisulfito de sodio de concentraciones 1000 ppm y 6.64 ppm respectivamente, la solución de metabisulfito de mayor concentración se empleó para prepara la de menor concentración. Las soluciones de EDTA y buffer Tris se prepararon con agua desionizada y desgasificada por 25 minutos a 25°C en un ultrasonido marca Ultrasonic Cleaner® modelo SB-3200 DTN. Posteriormente la solución de EDTA se empleó para preparar los stocks de metabisulfito (1000 ppm y 6.64 ppm) mientras que el buffer Tris se utilizó para preparar la solución de DTNB. Cabe mencionar que todas las soluciones se desgasificaron por 15 minutos a 25°C.

2.3. Tratamiento de las muestras.

Para el caso de las muestras líquidas sin fortificación se tomaron 200 μL de estas y se disolvieron con 800 μL de solución de EDTA 0.1 mM en tubos Eppendorf®. Para el caso de las muestras líquidas fortificadas con sulfitos en 6.64 ppm se tomaron 200 μL de muestra y se disolvieron con 800 μL de una solución de metabisulfitos con concentración de 6.64 ppm. Para el caso de la muestra sólida se molió en seco una porción de esta en un mortero con pistilo hasta formar una

pasta homogénea, de dicha pasta se pesaron aproximadamente 0.02 g de muestra, la cual se colocó en un tubo Eppendorf® y se le adicionó 1 mL de EDTA 0.1 mM para la muestra sin fortificación. La muestra fortificada se preparó con 1 mL de solución de metabisulfitos de 6.64 ppm. Posteriormente las muestras se agitaron en un vortex por 2 min. Enseguida los tubos Eppendorf® con las muestras se desgasificaron por 15 min a 25° C en el ultrasonido. Posteriormente se centrifugaron por 5 min a 10,000 rpm. El tratamiento de cada una de las muestras sin y con fortificación se realizó por triplicado de la misma manera, tanto para la muestra solida como para las liquidas.

Para el caso de las muestras de vino blanco y tinto se realizaron diluciones de 1:10 y para los néctares de 1:5, por lo que la concentración de SO_3^{2-} se multiplicó por el factor de 10 para el caso de los vinos, y para el caso de los néctares se multiplicaron por el factor de 5.

2.4. Preparación de la curva de calibración.

Para la cuantificación de sulfitos en las muestras se propuso una curva de calibración formada de cinco puntos a diferentes concentraciones. Para cada concentración se prepararon 10mL de solución de metabisulfito de sodio con solución de EDTA (0.1 mM) tal como se ilustra en la Tabla 1.

Tabla 1. Soluciones stock de sulfitos para preparar la curva de calibración.

Concentración de sulfitos ($\mu\text{g/mL}$)	Solución stock de sulfito (μL)	Solución EDTA (mL)
20	200	9.800
13.28	133	9.867
10	100	9.900
8	80	9.920
6.64	67	9.933

Para la obtención de las lecturas se hizo reaccionar el reactivo de Ellman con cada una de las soluciones stock en las condiciones de reacción de la Tabla 2. En la construcción de la curva solo se empleó un blanco de reacción, formado de 60 μL de DTNB con 60 μL de EDTA. La absorbencia se midió a 412 nm en un lector de microplacas BioTek® modelo ELX808 (10).

2.5. Cuantificación de Sulfitos.

Para cuantificar los sulfitos se empleó un lector de microplacas BioTek® modelo ELX808, así mismo para la toma de lectura se colocaron 60 μL del extracto con SO_3^{2-} y 60 μL de la solución del reactivo de Ellman's (DTNB) 3×10^{-4} M en una microplaca de 96 pozos. Así mismo se prepararon dos blanco de reacción, el primero se preparó mezclando 60 μL del extracto con 60 μL de solución EDTA 0.1 mM mientras que el segundo blanco se preparó mezclando 60 μL de DTNB con 60 μL de EDTA. La absorbencia se midió a 405 nm (10) y se restaron los dos blancos a la muestra problema. Para todas las muestras la lectura se hizo por triplicado tanto para las muestras sin y con fortificación así como para los blancos de reacción.

Cabe mencionar que para la toma de la lectura previamente se debe dar un tiempo de reacción entre la muestra y el reactivo de Ellman, dependiendo de la temperatura a la que se encuentre el lector de microplacas. Los tiempos de espera que se deben de dar entre la muestra problema y la solución de DTNB se ilustran en la Tabla 2.

Tabla 2. Tiempos y temperaturas de reacción entre la muestra y la solución de DTNB (10).

Temperatura (°C)	Tiempo de reacción (minutos)
18	13
25	5
30	2

Cabe mencionar que para expresar los resultados en mg SO₃⁻²/kg de muestra, se determinó la densidad de cada muestra líquida y para el caso de la muestra sólida se empleó el peso de la muestra empleada.

3. RESULTADOS

3.1 Curva de calibración obtenida.

La curva de calibración (Figura 1) obtenida para calcular la concentración de sulfitos en las muestras empleadas se realizó de acuerdo a la Tabla 1. En la curva se logra apreciar claramente que la regresión lineal obtenida fue de 0.9975, un valor aceptable puesto que es muy cercano a la unidad. Así mismo la ecuación denotada como $Y = 0.041X$ describe matemáticamente a la línea producto de la regresión lineal, donde Y representa la absorbencia y X la concentración de sulfitos. Con esta expresión se procedió a calcular la concentración del analito de interés en las muestra a partir de los valores de absorbencia obtenidos.

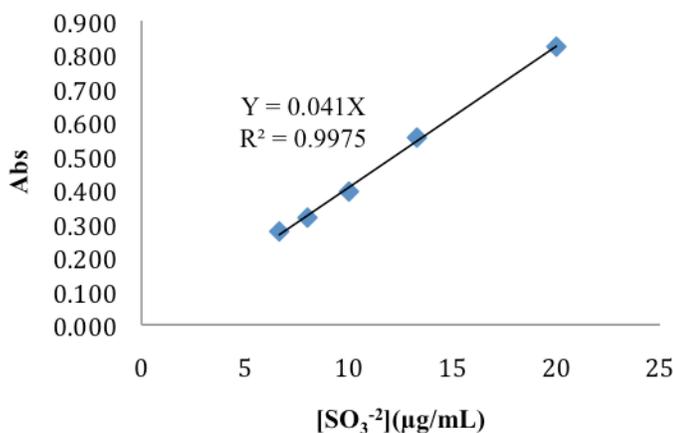


Figura 1. Curva de calibración para sulfitos.

Así, con los resultados obtenidos tanto para las muestras con y sin fortificación se procedió a calcular el porcentaje de recuperación mediante la siguiente ecuación:

$$\% \text{ de recuperación} = \frac{F - I}{A} * 100 \quad (3.1)$$

Donde:

F = Concentración del analito en la muestra fortificada.

I = Concentración del analito en la muestra sin fortificar.

A = Concentración del analito añadida en la fortificación.

3.2. Concentración de sulfitos y porcentajes de recuperación en las muestras.

Los resultados de la cuantificación de sulfitos de las muestras empleadas en este trabajo, se muestran en la Tabla 3.

Tabla 3. Resultados de la determinación de sulfitos en las muestras.

Muestra	[SO ₃ ⁻²](mg/kg muestra)	% de recuperación
Néctar de manzana (Jugos del Valle®)	0.77 ± 0.08	111.3
Néctar de mango (Jugos del Valle®)	2.68 ± 0.41	101.4
Vino blanco (Blue Nun®)	34.87 ± 1.82	101.7
Vino tinto (F. Chauvenet®)	8.12 ± 0.36	95.7
Rebanadas de mango deshidratado a granel	146.04 ± 7.09	100.3

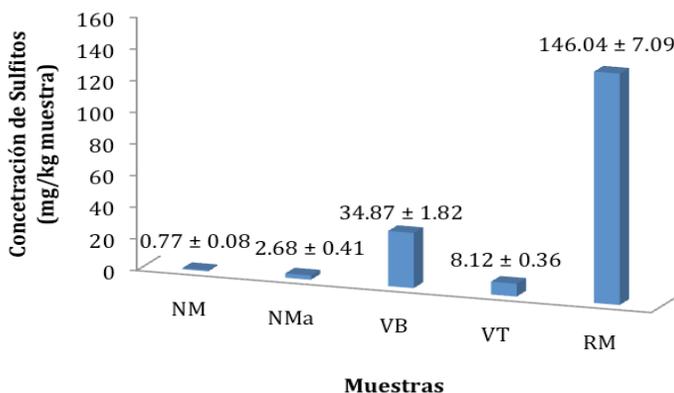


Figura 2. Concentración de sulfitos [SO₃⁻²] (mg/kg muestra) en las muestras de NM, Néctar de Manzana (Jugos del Valle®); NMa, Néctar de Mango (Jugos del Valle®); VB, Vino Blanco (Blue Nun®); VT, Vino Tinto (F. Chauvenet®) y RM, Rebanadas de Mango.

A partir de los resultados se determinó que las muestras de néctares y vinos (mostrados en la Tabla 1), contienen una concentración de SO₃⁻² por debajo de lo establecido por la NOM-130-SSA1-1995. Contrariamente, las rebanadas de mango presentaron concentraciones de SO₃⁻² superiores a las establecidas por dicha norma. Por otra parte, al comparar los resultados con las cantidades permitidas por la FDA, se observó que la muestra de vino blanco y las rebanadas de mango deshidratado superaron el límite máximo permitido por este organismo. Otras literaturas muestran resultados obtenidos de la cuantificación de sulfitos en muestras de mango deshidratados que van de 35- 37mg SO₃⁻²/kg de muestra. Dichos resultados los obtienen empleando el método oficial de la (AOAC 990.30) (6).

Las muestras de vinos tuvieron una mayor concentración de sulfitos respecto a los néctares, debido a que son bebidas susceptibles a sufrir contaminaciones por microorganismos que pueden oxidar el alcohol a ácido acético. En cambio en los néctares de fruta el empleo de sulfitos no sería tan necesario debido a que este tipo de bebidas pasan por un proceso de pasteurización antes de ser

embasadas, lo que permite que los alimentos sean menos susceptibles a sufrir alteraciones por microorganismos. Sin embargo en ocasiones se pueden añadir aniones sulfitos con el fin de asegurar que no se presente una proliferación microbiana en el producto durante su almacenamiento.

3.3. Comparación de los resultados obtenidos con trabajos reportados.

Resultados reportados en el 2010 por Villar y col. en el que analizaron muestras de vino blanco y tinto empleando el método de inyección de flujos, muestran que las concentraciones de sulfitos libres en vino blanco fueron de 10 a 28 mg SO₃⁻²/L y para el vino tinto de 23 a 31 mg SO₃⁻²/L (8). Comparando estos resultados con los obtenidos en este trabajo, puedo observarse las concentraciones de sulfitos que se encontraron en las muestras de vino blanco y vino tinto están cercanas a los intervalos mostrados por Villar y col. Cabe decir que la cantidad de sulfitos en vinos va a variar de acuerdo a las cantidades de la sustancia que empleó el fabricante en la elaboración de estas bebidas.

Con respecto a los porcentajes de recuperación de todas las muestras estudiadas, se observó que estuvieron por arriba del 90 %, esto nos indica que el método implementado es válido ya que de manera general la cantidad de sulfitos adicionada a las muestras se logró cuantificar en su totalidad. En general se observó que el método implementado para la cuantificación de sulfitos usando el reactivo de Ellman puede utilizarse para una determinación rápida, segura y confiable de aniones SO₃⁻² presentes en productos alimenticios comerciales. Esto podría permitir a los organismos que regulan el uso de aditivos en alimentos, tener un método alternativo para cuantificar el uso de aniones sulfito en alimentos.

Tabla 4. Determinación de sulfitos en seis muestras de alimentos mediante dos métodos diferentes (10).

Muestra	Método PRA-formaldehido modificado		Método de DTNB	
	Sulfitos (µg/g)	Porcentaje de recuperación (%)	Sulfitos (µg/g)	Porcentaje e recuperación (%)
Hongos <i>Dictyophora</i>	1.3x10 ³	92	1.4x10 ³	100
Almendras	2.6x10 ³	100	2.9x10 ³	102
Germen de soya	1.1	85	1.4	112
Azúcar granulada	5.8	98	6.3	108
Cerveza Yanjing®	-	61.1	5.5	97
Pasta de fideo	1.9	92.9	2.5	108

En el 2006 Yongjie, L y Meiping, Z realizaron un trabajo en el que cuantificaron la concentración de sulfitos en seis muestras de alimentos (Tabla 4) empleando dos técnicas de diferentes (método PAR-formaldehido modificado y DTNB). En dicho trabajo exponen para cada método la concentración y el porcentaje de recuperación obtenido para cada muestra de alimento.

En los resultados expresados en la Tabla 4 se logra apreciar claramente que las concentraciones obtenidas por ambos métodos son similares para cada muestra. Pero en general los resultados tanto de las concentraciones como de los porcentajes de recuperación son mayores con el método de DTNB que con el de PAR-formaldehido modificado. Esto nos quiere decir que el método de DTNB es más preciso que el del PAR-formaldehido modificado, debido a que los porcentajes de recuperación son mayores.

3.4. Condiciones a controlar en la cuantificación.

Otros investigadores que han empleado el reactivo de Ellman para la cuantificación de sulfitos, mencionan que tanto el pH como la presencia de metales de transición y de NO^{-2} podrían causar interferencias en la cuantificación del analito de interés. Para el caso del pH se deben evitar tener valores alcalinos puesto que altas concentraciones de aniones OH^{-} pueden reaccionar con el DTNB dando valores altos de absorbancia y por ende la cuantificación será errónea debido a la presencia de falsos positivos. Lo mismo ocurre con el caso de los iones metálicos y los aniones NO^{-2} puesto que estos pueden catalizar la oxidación de los sulfitos, evitando una correcta cuantificación debido a que ya no son capaces de reaccionar con el DTNB en estado oxidado (10).

Uno de los inconvenientes que se encontró durante el desarrollo de la metodología fue que el tratamiento que se le dio a las muestras no fue el mismo para todas, debido a que el color de la muestra y la concentración de sulfitos fueron factores que se tuvieron que controlar para hacer una buena cuantificación. Ya que para evitar que el color interfiriera en la medición se tuvieron que hacer diluciones del extracto (dos diluciones para los vinos y una para los néctares). Otro inconveniente que se encontró del método fue que la temperatura del medio ambiente y el flujo de oxígeno en este, son factores que se deben controlar, ya que el reactivo de Ellman se degrada en presencia de concentraciones altas de oxígeno. Finalmente, también se detectó que la reacción entre el reactivo de Ellman y los SO_3^{-2} es muy susceptible a los cambios de temperatura.

Por último en la Tabla 5 se ilustran los resultados obtenidos del porcentaje de recuperación y concentración de sulfitos para la muestra de mango deshidratado cuando solo se tritura y cuando se muele en seco. Comparando los resultados de estos dos tratamientos realizados a la muestra sólida, se aprecia que la concentración y el porcentaje de recuperación aumentan cuando la muestra se muele en vez de solo tritararla. Esto se puede deber a que al moler la muestra se disminuye el tamaño de partícula del cuerpo y por lo tanto al momento de la extracción del analito hay una mayor superficie de contacto entre el disolvente y la muestra de interés. Por otro lado el proceso de molienda permite que la muestra se homogenice y los resultados obtenidos sean precisos y exactos.

Tabla 5. Comparación de resultados de dos métodos de tratamiento en muestra sólida.

	Muestra triturada	Muestra molida
Porcentaje de recuperación (%)	80.3	100.3
mgSO_3^{-2} /kg de muestra	82.20 ± 10.93	147.04 ± 7.09

4. CONCLUSIONES

En este trabajo se realizó la implementación de un método para la cuantificación de sulfitos con aplicación en muestras de alimentos. Se estudiaron cinco muestras de alimentos, de las cuales se logró apreciar (Figura 2) que en todas hubo la presencia de sulfitos en diferentes concentraciones. La muestra de rebanadas de mango deshidratado presentaron la mayor concentración del compuesto de interés, en cambio las muestra de néctar de manzana y mango mostraron concentraciones bajas de sulfitos comparadas con las otras muestras analizadas. En cuanto a los vinos, estos mostraron tener una concentración mayor de sulfitos respecto a los néctares y menores a las rebanadas de mango.

El método implementado para la cuantificación de aniones sulfitos, resultó ser una prueba rápida, segura y confiable para la cuantificación de sulfitos en los alimentos procesados estudiados. El

inconveniente de este método es que puede ser muy sensible a los errores de mediciones de volúmenes realizadas por el analista, debido a que es un método a microescala. Así mismo se comprobó que este método es capaz de cuantificar pequeñas cantidades de sulfitos y esto se ve claramente en el resultado obtenido para la muestra de néctar de manzana cuya concentración del anión es de apenas 0.77 mg/kg.

En cuanto al tratamiento de las muestras solidas, se observó que se debe moler en seco hasta formar una pasta homogénea con la finalidad de tener resultados exactos y precisos. Puesto que si solo se tritura la muestra, no se logran extraer la mayor cantidad posible del analito de interés.

REFERENCIAS

1. Acuerdo por el que se determinan los aditivos y coadyuvantes en alimentos, bebidas y suplementos alimenticios, su uso y disposiciones sanitarias. Recuperado el 21 de Mayo de 2013, de: www.cofepris.gob.mx/MJ/Documents/.../acaditivo160712.pdf
2. Cameron, S. and Ronald, P. S. (2003). The Spectroscopic Determination of Aqueous Sulfite Using Ellman's Reagent. *MURJ*, 45, 39-43.
3. Chen, L., De Borba, B. and Rohrer, J. (2004). Determination of Total and Free Sulfite in Foods and Beverages. *Thermo Scientific*, 54, 1-8.
4. Costanigro, M., Appleby, C. and Menke, S. (2013). The wine headache: Consumer perceptions of sulfites and willingness to pay for non-sulfited wines. *Food Quality and Preference*, 31, 81 – 89.
5. NORMA Oficial Mexicana NOM-130-SSA1-1995, Bienes y servicios. Alimentos envasados en recipientes de cierre hermético y sometidos a tratamiento térmico. Disposiciones y especificaciones sanitarias. Recuperado el 21 de Mayo de 2013, de: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/130ssa15.html>
6. Proposition 65. (2012). Consumption of Sulfur Dioxide in Dried Fruits. *Interpretive Guideline*, 2012-02, 5. Recuperado el 23 de Enero de 2014, de: http://www.oehha.org/prop65/law/pdf_zip/SO2driedfruitIG.pdf
7. Ruiz, C. and Jiménez, F. (2009). Application of flow injection analysis for determining sulphites in food and beverages: A review. *Food Chemistr*, 112, 487–493.
8. Villar, N., Ramos, M., Bello, M., Fernández, R., and Callejón, M. (2010). Rapid flow injection method for the determination of sulfite in wine using the permanganate–luminol luminescence system. *Talanta*, 82, 2003-2006.
9. World Health Organization. (2007). *Expert committee of food additives sulfur dioxide*. Recuperado el 03 de Agosto de 2014, de: <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecval/jec2215.htm>
10. Yongjie, L and Meiping, Z. (2006). Simple methods for rapid determination of sulfite in food products. *Food Control*, 17, 975-980.
11. Zhong, Z., Li, G., Zhu, B., Zhibin, L., Huang, L. and Wu, B. (2012). A rapid distillation method coupled with ion chromatography for the determination of total sulphur dioxide in foods. *Food Chemistry*, 131, 1044-1050.