



**UNIVERSIDAD LAICA “ELOY ALFARO DE MANABI”**

**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS**

**INGENIERIA AGROINDUSTRIAL**

**TRABAJO DE INVESTIGACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE  
INGENIERO AGROINDUSTRIAL**

**TEMA**

**EFFECTO DE COMPUESTOS FENÓLICOS DE CÁSCARA Y PULPA DE  
MANGO (*Mangífera indica L.*) EN LA CONSERVACIÓN DE FILETES DE  
PESCADO ALBACORA, MANTA 2018.**

**AUTORA**

**ACUÑA VÉLEZ LETICIA LISSETH**

**TUTORA**

**Ing. María Isabel Mantuano. Mg**

**MANTA – ECUADOR**

**2018**

## LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL EXAMINADOR

APRUEBAN EL INFORME DEL TRABAJO DE GRADO SOBRE EL  
TEMA:

“Efecto de Compuestos Fenólicos de Cáscara y Pulpa de Mango (*Mangifera indica L.*) en la Conservación de Filetes de Pescado Albacora, Manta 2018” de la egresada Acuña Vélez Leticia Lisseth, luego de haber sido analizado por los Miembros del Tribunal de Grado, en cumplimiento de lo que la hace acreedora al título de Ingeniera Agroindustrial.

---

Ing. María Isabel Mantuano Cusme Mg

TUTORA DE TESIS

Ing. Ab. Julio Ávila Roca

Ing. Aldo Mendoza González Mg.

---

Ing. Ítalo Bello Moreira, Mg.

---

## CERTIFICACIÓN DEL TUTOR

Yo, Ing., Mantuano Cusme María Isabel, certifico haber tutelado la tesis “**Efecto de Compuestos Fenólicos de Cáscara y Pulpa de Mango (*Mangífera Índica L.*) en la Conservación de Filetes de Pescado Albacora, Manta 2018.**” Que ha sido desarrollada por Acuña Vélez Leticia Lisseth, previa a la obtención del título de ingeniera agroindustrial, de acuerdo con el reglamento para la elaboración de tesis de grado de tercer nivel de la Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí

Manta, 25 de septiembre de 2018.

Lo certifico,

---

Ing. María Isabel Mantuano Mg.  
**TUTOR**

## **AGRADECIMIENTOS**

A Dios principalmente, por brindarme la fortaleza, salud, esperanza a lo largo de mi vida y por regalarme la familia que tengo.

A mi madre por ser la principal promotora de mis sueños, por confiar y creer en mí, por los consejos, valores y principios que me ha inculcado.

A mi segunda mamá Letty, por siempre estar dispuesta a apoyarme en lo que sea necesario, a mi melliza, mi complemento, Lisbeth por estar siempre presente en mis buenos y malos momentos. Mis hermanos Edu, Julián, Enrique y Joao por confiar en mí y apoyarme.

A mis profesores en especial al Ing. José Luis Coloma por motivarme en la realización de este proyecto, la Ing. María Isabel Mantuano tutora de tesis por su paciencia y apoyo.

A mis compañeros Gilson Zambrano y Marilyn Fernández quienes siempre estuvieron prestos a brindarme su ayuda cuando lo necesite. A Katuska Alchundia, cómplice, fiel e inigualable compañera por los inolvidables momentos compartidos juntas a lo largo de nuestra vida universitaria. Por último, agradezco a quienes tuve la oportunidad de conocer y han sido parte importante y de gran apoyo para la realización de esta investigación, Ing. David Meza por comprenderme y ayudarme, Bioq. Ronal Vera por motivarme, acompañarme y enseñarme.

## **DEDICATORIA**

A Dios por permitirme realizar la presente investigación y por siempre cuidar de mí.

A mi madre ya que ella fue el principal cimiento para la construcción de mi vida profesional, sentó en mí las bases de responsabilidad y deseos de superación, ha sido mi mayor ejemplo de lucha y constancia, por su esfuerzo y sacrificio he podido cumplir con esta meta tan importante para mí, ella es el motor que me inspira a seguir adelante.

A mis hermanos que han sido un apoyo incondicional a lo largo de toda mi vida quienes han sido mi ejemplo y motivación.

## **DECLARACIÓN DE AUTORÍA**

La responsabilidad de los hechos, ideas y doctrinas expuestos en la presente tesis, corresponde exclusivamente al tutor y el patrimonio intelectual de la autora, estudiante de la carrera de Ingeniería Agroindustrial de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí.

---

Srta. Acuña Vélez Leticia Lisseth

CI: 1726934134

## RESUMEN

En la presente investigación se evaluó y cuantificó los compuestos fenólicos extraídos de la cáscara y pulpa de mango (*Mangifera indica*), los mismos que fueron colocados en diferentes formas (encapsulado y sin encapsular) en un recubrimiento a base de almidón de yuca al 1% y aplicados en filetes de albacora, evaluando su poder antioxidante durante tres días simulando las condiciones que realizan los vendedores informales. En la cuantificación de compuestos fenólicos de la pulpa y cáscara de mango, los resultados expresados en mg/ g fueron de 78,817 en la pulpa y 135,540 en la cáscara. Los valores de la Actividad Antioxidante fueron 17,63 y 168,21  $\mu\text{M}$  TEAC/gr m.s. respectivamente, donde la cáscara fue la que mayor poder antioxidante y compuestos fenólicos presentó. En cuanto al poder antioxidante en los filetes de pescado en mejor tratamiento fue el que tenía el recubrimiento cáscara sin encapsular ya que en el día 0 y 1 fue el que presentó mejores resultados microbiológicos cumpliendo con la norma técnica ecuatoriana NTE INEN 183:2013 y La Norma Oficial Mexicana NOM-093-SSA1-1994.

Palabras Clave: Antioxidantes, Compuestos Fenólicos, Thunnus Albacares, Mango.

## Summary

In the present investigation, the phenolic compounds extracted from the mango peel and pulp (*mangifera indica*) were evaluated and quantified, which were placed in different forms (encapsulated and not encapsulated) in a coating based on cassava to 1% and applied in fillets of albacore, evaluating its antioxidant power for three days simulating the conditions of sells informal. In the quantification of phenolic compounds and the antioxidant activity (AA) of the pulp and mango peel, expressed in mg / g was 78,817 in the pulp and 135,540 in the peel. The values of the AA were 17.63 and 168.21  $\mu\text{M TEAC / gr m.s.}$  respectively, where the skin was the one with the greatest antioxidant power and phenolic compounds present. Regarding the antioxidant power in the fish fillets the better treatment, it was the one that had the Cascara coating without encapsulating, which on day 0 and 1 was the one that presented the best microbiological results, complying with the Ecuadorian technical norm NTE INEN 183: 2013 and La Official Mexican Standard NOM-093-SSA1-1994.

Key words: Antioxidants, Phenolic Compounds, Thunnus Albacares, Mango.

# Contenido

## CAPITULO I

1.1 INTRODUCCIÓN.....	1
1.2 EI PROBLEMA.....	3
1.3 OBJETIVOS.....	5
1.3.1 GENERAL.....	5
1.3.2 ESPECÍFICOS.....	5
1.4 JUSTIFICACIÓN.....	6

## CAPITULO II

MARCO TEÓRICO.....	8
2.1 ALBACORA.....	8
2.2 OXIDACIÓN EN EL PESCADO.....	10
2.3 BACTERIAS EN EL PESCADO.....	11
2.4 REQUISITOS MICROBIOLÓGICOS SEGÚN NORMA TÉCNICA ECUATORIANA NTE INEN 183:2013.....	13
2.5 EL MANGO.....	15
2.6 ANTIOXIDANTES DE USO ALIMENTARIO.....	20
2.7 COMPUESTOS FENÓLICOS.....	23
2.8 ENCAPSULACIÓN.....	26
2.9 EMPLEO DE LAS PLACAS PETRIFILM TM EN LA IND. DE ALIMENTOS.....	30

## CAPITULO III

METODOLOGÍA.....	32
3.1 UBICACIÓN DEL PROYECTO.....	32
3.2 VARIABLES EN ESTUDIO.....	32
3.3 FACTORES EN ESTUDIO.....	32
3.4 TRATAMIENTOS.....	33
3.5 DISEÑO EXPERIMENTAL.....	33
3.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICOS.....	34
3.7 MANEJO DEL EXPERIMENTO.....	34
3.8 MÉTODO DE EVALUACIÓN.....	35

## CAPITULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	43
-----------------------------	----

<b>4.1 DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS DEL MANGO</b>	<b>.43</b>
<b>4.2 CUANTIFICACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS TOTALES DE CÁSCARA Y PULPA DE MAGO</b>	<b>.....43</b>
<b>4.3 ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE</b>	<b>.....44</b>
<b>4.4 ANALISIS MICROBIOLÓGICOS EN FILETES DE PESCADO RECUBIERTOS</b>	<b>.46</b>
<b>CAPITULO V</b>	
<b>CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES</b>	<b>.....50</b>
<b>5.1 CONCLUSIONES</b>	<b>.....50</b>
<b>5.2 RECOMENDACIONES</b>	<b>.....51</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>.....52</b>
<b>ANEXOS</b>	<b>.....60</b>

# CAPITULO I

## 1.1 INTRODUCCIÓN

En la actualidad se está estudiando la cantidad total de compuestos fenólicos presentes en la cáscara y pulpa de mango (*mangífera indica*) y su actividad antioxidante la cual se lleva a cabo mediante los métodos de Folin-Ciocalteu propuesto por Espinoza, A. y Santacruz, S. (2013) y TEAC modificado, usando la decoloración por el radical catión ABTS. La aplicación de estas metodologías se debe a que se conoce que las nuevas tendencias tecnológicas se han enfocado en la producción de alimentos reestructurados y funcionales a partir de compuestos activos como antioxidantes, vitaminas, aminoácidos, minerales etc. y, por tanto, de su conservación en los alimentos durante el procesamiento y almacenaje (Parra Huertas, 2010).

La aplicación de estas tendencias a un alimento que es ampliamente consumido y comercializado en Manta como lo es el pescado, permite conocer la efectividad de estos tratamientos sobre el mejoramiento de la calidad puesto que existe la tendencia a evitar o minimizar los aditivos sintéticos por alternativas naturales que en este caso serían los extractos de compuestos fenólicos de la pulpa y cascara de mango.

Los antioxidantes son moléculas orgánicas de origen natural o sintético que pueden evitar o retardar el desarrollo de los procesos de oxidación. Se estima que la vida útil de muchos productos alimentarios aumenta entre un 15 y 200% por el empleo de antioxidantes (Halliwell, 1996).

En un estudio se analizó la actividad antioxidante (AA) en 35 frutas y verduras de Uganda, los resultados mostraron que las plantas dietéticas con mayor actividad antioxidante por tamaño de porción fueron granadas (*Punica granatum*), *Canarium schweinfurthii*, guayaba (*Psidium guajava*), mango (*Mangifera indica*) y tomate de árbol (*Cyphomandra betacea*) (Torunn et al. 2009).

En cuanto a la cáscara, en un estudio se realizó una comparación entre la concentración de polifenoles en cáscaras frescas y liofilizadas de frutos, observándose que los extractos acuosos de cáscaras liofilizadas tienen valores similares al control (hojas de té verde), excepto el liofilizado de cáscara de mango que presenta una concentración de polifenoles significativamente mayor que el control, es decir hojas té verde. (Benites, J. 2011). Por otra parte otros estudios indican que la pulpa que es la porción comestible del mango contiene carotenoides y polifenoles (ácido gálico, taninos hidrolizables, quercetina y mangiferina) que pueden proteger contra el desarrollo de CCO; pero su contenido es variable. (Corrales et al. 2014).

La adición de antioxidantes a los alimentos es uno de los medios más efectivos para retardar la oxidación.

Es por esto, que el presente trabajo fue realizado con el fin de dar a conocer la cantidad de compuestos fenólicos de los subproductos del mango y ver el efecto de estos compuestos fenólicos (pulpa y cáscara de mango) en el crecimiento microbiano del pescado albacora, simulando las condiciones manipulación de los vendedores informales es decir se aplicarán compuestos fenólicos de pulpa y cascara de mango con y sin encapsular en filetes de pescado albacora con una dimensión de 11 cm x 7 cm y espesor de 0,8 cm según Santacruz, S. et al. 2011.

Este estudio se lo realiza ya que, a pesar que el pescado es un alimento de alto valor nutricional es fácil de contaminarse por microorganismos patógenos procedentes del medio donde viven, y por una inadecuada manipulación, almacenamiento e higiene; todos estos son factores cruciales para la calidad del producto, ya que afectan directamente al consumidor final, ocasionándole enfermedades que son transmitidas por alimentos contaminados (ETA) como salmonelosis, shigelosis entre otras, estudios reflejan que el pescado crudo es un alimento de alto riesgo de contaminación microbiana debido que experimentan cambios microbiológicos desde el momento de su captura hasta su comercialización (Martínez, BL y Romero, MS. 2015).

## 1.2 EI PROBLEMA

En términos de FAO: “Existe seguridad alimentaria cuando todas las personas tienen en todo momento acceso físico y económico a suficientes alimentos inocuos y nutritivos para satisfacer sus necesidades alimenticias y sus preferencias en cuanto a los alimentos a fin de llevar una vida activa y sana.” Este último punto se refiere a la calidad (problemas de higiene) e inocuidad de los alimentos, el que cobra especial protagonismo y trascendencia y al que van dirigidas todas las políticas de control (Kisner, M. 2010).

En el caso del pescado, en cuanto a la pesca artesanal, más allá de las limitaciones técnicas en las tareas de captura, presenta dos tipos de problemas: el deficiente manipuleo del pescado previo al intercambio, que deteriora la calidad, provocando pérdidas en el valor comercial y nutritivo del producto e incluso problemas en la salud de los consumidores y la subutilización de la pesca blanca.

Tradicionalmente uno de los problemas de comercialización de primera venta es debido a la calidad ya que no se reúnen las condiciones de calidad exigidas por el mercado. (Garazo, A. 2016)

Pero Manta es un caso especial, porque la industrialización del atún y sardina ha permitido un gran desarrollo. (El Diario. 2011).

En playita mía la pesca de albacora, picudo, pez sierra, bonito atún, tiburones y otras especies, es abundante. La especie más capturada es el bonito atún. Los pescadores aseguran que hay un banco de este pescado entre la milla 8 y 9 frente a las costas de Manta y su abundancia abarata el precio al público. (El Diario. 2010) Después de la pesca, el rápido deterioro posterior a la muerte del pescado es debido a la acción de diferentes vías de alteración, tales como acción enzimática endógena, acción microbiana, oxidación lipídica no enzimática, pardeamiento no enzimático y pardeamiento enzimático (Aubourg et al., 2005).

A la hora de proponer estrategias para inhibir la oxidación de los alimentos pueden distinguirse entre los productos no procesados y los procesados. En un producto no procesado, como es el caso del pescado entero, se pueden aplicar los siguientes métodos con la finalidad de retrasar la oxidación:

- Reducir la temperatura de almacenamiento
- Aplicar atmósferas modificadas
- Eliminar la hemoglobina por sangrado

Los lípidos de origen marino, comparados con los lípidos de animales terrestres, presentan una elevada susceptibilidad a la oxidación, como consecuencia del alto contenido de PUFAs (ácidos grasos poliinsaturados). La oxidación de los lípidos origina atributos sensoriales desagradables, que se asocian a la rancidez, durante el procesado y almacenamiento del pescado graso.

La oxidación de los lípidos repercute negativamente en los atributos sensoriales, pero además afecta negativamente, al valor nutricional, a la toxicidad y en aspectos tecnológicos, debido a la interacción de los productos de oxidación de los lípidos con las proteínas (Plazos, M. 2005).

El mango es un fruto considerado alimento funcional por el alto contenido de compuestos bioactivos (Ribeiro y Schieber. 2010).

No obstante, existe una desventaja, se sabe que los compuestos fenólicos son sensibles a las condiciones ambientales adversas, incluyendo temperatura, luz, pH, humedad, y oxígeno (Tonon et al., 2010), su poder antioxidante es también la causa de su inestabilidad en almacenamiento. (Munin, A y Edwards-LÈvy, F. 2011).

## **1.3 OBJETIVOS**

### **1.3.1 GENERAL**

- Estudiar el efecto de compuestos fenólicos de pulpa cáscara de mango en la conservación de filete de pescado albacora.

- 

### **1.3.2 ESPECÍFICOS**

- Cuantificar compuestos fenólicos de la pulpa y cáscara de mango
- Determinar la actividad antioxidante de compuestos fenólicos de pulpa y cáscara de mango
- Evaluar los compuestos fenólicos del mango (pulpa y cáscara) en el crecimiento microbiano del pescado albacora.

## 1.4 JUSTIFICACIÓN

Existe la tendencia a minimizar los aditivos sintéticos por alternativas naturales, lo cual ha estimulado a evaluar la efectividad de estos compuestos naturales que poseen propiedades antioxidantes. (Cruz et al., 2007). Se conoce que frutas y verduras son excelente fuente de antioxidantes entre ellas el mango, que es una fruta mayormente conocida por su exquisito sabor y muy comúnmente encontrada en la provincia de Manabí en el cantón Portoviejo, posee propiedades beneficiosas para la salud, su parte comestible suele ser utilizada para la creación de nuevos alimentos con valor agregado.

Mientras que el sub-producto de esta fruta (cáscara) tiene muy buenas propiedades bioactivas por su contenido de polifenoles que es incluso mayor a los de la pulpa, lo cual impulsa a la utilización de esta parte anatómica, de tal manera que se genera un menor impacto medioambiental y una mayor utilización de recursos.

La aplicación de los conocimientos técnicos actuales, es necesario para el desarrollo investigativo en el campo agroindustrial enfocado a productos y sub productos, para conocer los beneficios que estos nos pueden brindar, especialmente productos y sub productos encontrados más comúnmente en nuestro medio como el mango ya que, según el Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca (MAGAP) citado por El Diario (2016) Ecuador tiene un área de 5.200 hectáreas de la fruta que producen alrededor de 13 millones de cajas por año. Lo cual indica que la generación de residuos originados por esta fruta es elevada.

En la actualidad las tecnologías de conservación de alimentos están en una constante evolución, y los métodos tradicionales son desplazados por alternativas más seguras y eficientes. (Minor, PH. 1998). La encapsulación de compuestos bioactivos es una de las técnicas de conservación utilizada en la industria alimentaria.

El aprovechamiento de las partes esta fruta en el desarrollo de alimentos funcionales es de vital importancia para la agroindustria ya que mediante este tipo de estudios se podría demostrar efectividad de las propiedades de esta fruta.

Al evaluar la cáscara y pulpa de mango en cuanto a su crecimiento microbiano y conocer su contenido de compuestos fenólicos totales presentes, puede servir como punto de partida para la utilización de estas partes en el desarrollo de productos que puedan servir para prevenir y proteger de enfermedades.

## CAPITULO II

### MARCO TEÓRICO

#### 2.1 ALBACORA

El atún aleta amarilla (*Thunnus albacares*) es una especie epipelágica oceánica que se encuentra tanto por encima como por debajo de la termo clina es de cuerpo fusiforme con la segunda aleta dorsal y la aleta anal amarillo brillante, las cuales están alargadas en especímenes maduros. El cuerpo azul metálico oscuro, cambiando a plata en el vientre, tiene cerca de 20 líneas verticales discontinuas su distribución es mundial en los mares tropicales, pero ausente en el mar mediterráneo (Fischer et al. 1995)

El atún de aleta amarilla tiende a hacer cardúmenes con peces de similar tamaño, incluyendo otras especies de atún; y ejemplares de mayor tamaño, frecuentemente son vistos con delfines, marsopas, ballenas y tiburones ballena (Shomura et al., 1993). Por su característica bromatológica, calidad de su carne y contenido de proteínas, vitaminas y minerales esenciales para el hombre, es una especie de consumo frecuente entre los venezolanos. Constituye una de las actividades de mayor importancia económica del país, por los elevados volúmenes de capturas y desembarques registrados, así como por su valor agregado, ingresos generados y número de empleos creados (Marcano et al., 1992)

El pescado es bien conocido como una fuente saludable de proteínas dietéticas ricas en aminoácidos esenciales, grasas, vitaminas y ácidos grasos insaturados que están asociados con la reducción de contraer trastornos neuronales (Jump et al., 2012) El pescado es una valiosa fuente de macroelementos esenciales como el Na, K, P y Mg, que desempeñan un papel clave en la salud humana (Bouffleur et al., 2013).

Uno de los objetivos de los ingenieros y los científicos de alimentos en las últimas dos décadas ha sido buscar tecnologías alternativas de conservación que sean amigables con el medio ambiente, de bajo costo y que conserve los atributos de calidad del producto alimenticio (Barbosa-Cánovas y Bermúdez, 2010). Una variedad de nuevas tecnologías no térmicas, como el US, la irradiación y la aplicación de campos magnéticos (CM) han sido comercializadas y ofrecidas al consumidor muchas de estas ventajas (Barbosa-Cánovas y Bermúdez, 2010).

### **2.1.1 Etimología.**

La palabra atún se deriva del árabe hispánico attún, del clásico تونن (tunn), a su vez del latín thunnus, este del griego antiguo θύννος (thýnnos), del verbo θύνω (thýnō, "lanzarse").

### **2.1.2 Capturas de Atún Aleta Amarilla**

Los análisis de los datos históricos del Instituto Nacional de Pesca evidencian un aumento en las capturas de atún aleta amarilla en el período 1998-2005 donde alcanzaron un promedio de 38 517 t, respecto a años anteriores (1985-1997) registrando un promedio de 18 569 t y una disminución en las capturas entre los años 2006-2013 a 26 064 t. El análisis de la CIAT también indica una disminución de la biomasa en los períodos indicados, si consideramos que los regímenes de productividad corresponden a regímenes de biomasa" (CIAT, 2007).

### **2.1.3 Biología**

El atún aleta amarilla (*thunnus albacares*) es una de las especies de los túnidos más grandes del mundo, alcanza un peso de más de 180 kg más de 200 cm de largo. Dado que su cuerpo está modelado para la resistencia y la velocidad, es difícil que otro le gane en este último rubro pues es capaz de nadar a unos 80 km/hr. Es un pez carnívoro y depredador oportunista; incluye en su dieta especies de crustáceos, moluscos y otros peces (Charles, J. Krebs. 2008).

#### **2.1.4 Composición.**

El thunnus albacares (AAA) es un pez muy rico en diferentes nutrientes, cabe mencionar que el AAA solo contiene 108 Cal por cada 100 gr de atún además de que la composición de grasa es el 8% y proteínas el 92% aprox. El colesterol contenido es de 40 mg por los 100 gr., y 0% de carbohidratos. (Fast secret. 2015)

#### **2.2 OXIDACIÓN EN EL PESCADO**

Las grasas, los aceites y los alimentos con base lipídica se deterioran al sufrir diversas reacciones de degradación tanto por calentamiento o durante el almacenamiento prolongado. Los principales procesos de deterioro son las reacciones de oxidación y de descomposición de los productos de oxidación, ésta es la forma de deterioro de los alimentos más importante luego de la producida por los microorganismos. La reacción de oxidación es una reacción en cadena, es decir, que una vez iniciada, continúa acelerándose hasta la oxidación total, de las sustancias sensibles (Pokorny et al. 2004).

En el pescado la gran cantidad de ácidos grasos poliinsaturados presentes, la hacen altamente susceptibles a la oxidación mediante este mecanismo. El primer paso en la oxidación es la pérdida de un átomo de hidrogeno del átomo de carbono central de la estructura pentahídrica presente en la mayoría de los ácidos grasos con más de un doble enlace (Huss, HH. 1998)

Con estas reacciones aparecen sustancias orgánicas (como aldehídos y cetonas) los cuales producen olores y sabores a rancio, se altera el color y la textura, y descende el valor nutritivo al perderse algunas vitaminas y ácidos grasos poliinsaturados. Además, los productos formados en la oxidación pueden llegar a ser nocivos para la salud. Algunas formas de controlar y reducir la autooxidación son: la exclusión del oxígeno en el alimento (envasado al vacío, material impermeable al oxígeno), bajas temperaturas, conservación del alimento en la oscuridad, o la incorporación de aditivos antioxidantes (Pokorny et al. 2004).

## **2.3 BACTERIAS EN EL PESCADO**

Los peces capturados en mar abierto están exentos de patógenos entéricos, mientras que los de agua dulce están expuestos a la contaminación procedentes del hombre y otros animales.

Las bacterias productoras de aminos vasopresoras (escombrotóxina), como histidina y otras, son en su mayor parte enterobacterias mesófilas, entre ellas *Proteus morganii*, *Hafnia alvei* y *Klebsiella pneumoniae*.

### **2.3.1.2.3 Escherichia Coli**

*Escherichia coli* pertenece a un grupo de bacterias presentes en el intestino del ser humano y animales, siendo, la gran mayoría, inocuas en ellos. Sin embargo, hay algunas cepas de *E. coli* productoras de toxinas, llamadas verotoxinas o toxinas de tipo shiga que pueden causar cuadros gastrointestinales graves en el ser humano (ELIKA. 2013).

Las condiciones de supervivencia de las cepas de *E. coli* verotoxigénica (ECVT) sobreviven durante meses en el estiércol contaminando las aguas superficiales (bebida y riego), las verduras y frutas y la superficie de las tierras de cultivo. Estas bacterias se multiplican a temperaturas entre 6 y 50° C, con una temperatura óptima alrededor de 37° C. También, pueden crecer en presencia de un 6% de NaCl, ya que son más resistentes a estos compuestos que otras bacterias, como la *Salmonella* (ELIKA. 2013).

### **2.3.2 Microorganismos Mesofilos**

Bacteria que descompone la materia orgánica a temperaturas que oscilan entre 30 y 40 C. El agua es utilizada como medio de eliminación de excretas y otros desechos; puede también contener microorganismos patógenos de asiento no intestinales (flora de la piel, por ejemplo); estos son las llamadas bacterias mesofilicas (Ecured. 2018)

### **2.3.2.1. Características**

Se multiplican en aerobiosis temperatura de incubación entre los 20 y los 37°C

Pueden ser patógenas o saprofitas.

Recuentos altos en alimentos estables a menudo indican materias primas contaminadas o tratamientos no satisfactorios desde el punto de vista sanitario.

En los productos perecederos pueden indicar también condiciones inadecuadas de tiempo/temperatura durante su almacenamiento.

La presencia de un número elevado de bacterias aerobias mesófilas que crecen bien a temperatura corporal o próxima a ella, significa que pueden haberse dado condiciones favorables a la multiplicación de los microorganismos patógenos de origen humano o animal (Ecured. 2018).

### **2.3.3 Microorganismos Coliformes**

Las coliformes son una familia de bacterias que se encuentran comúnmente en las plantas, el suelo y los animales, incluyendo los humanos (Munn, 2004). La problemática de la contaminación marina y su marcada influencia en la salud de los ecosistemas costeros, está estrechamente relacionada con el aumento creciente de las poblaciones que habitan las zonas costeras y, de igual manera, con el incremento de las actividades domésticas, agrícolas e industriales que, por el mal manejo e inadecuado control de los desechos sólidos y líquidos, afectan el medio marino con significativas implicaciones a nivel ecológico, socioeconómico y de salubridad (Marín et al., 2005).

Las aguas costeras con fines recreativos como las playas, por lo general, se encuentran en las proximidades de las áreas urbanas, donde los vertimientos sin tratar, con altos contenidos de microorganismos patógenos y otros agentes contaminantes, representan uno de los principales problemas sanitarios y ecológicos de las zonas costeras (Garay et al., 2002).

## 2.4 REQUISITOS MICROBIOLÓGICOS SEGÚN NORMA TÉCNICA ECUATORIANA NTE INEN 183:2013

Requisitos microbiológicos según norma técnica ecuatoriana NTE INEN 183:2013 para pescado fresco refrigerado o congelado, los productos deben estar exentos de microorganismos patógenos y sustancias tóxicas producidas por estos, que puedan ocasionar un peligro para la salud. los cuales deben cumplir con los requisitos indicado en la **tabla 1**.

**Tabla 1.** Requisitos microbiológicos para los pescados frescos refrigerados o congelados

Requisito	n	m	M	c	Método de ensayo
Recuento de microorganismos mesófilos, ufc/g	5	5 x 10 <sup>5</sup>	10 x 10 <sup>5</sup>	3	AOAC 990.12
<i>E. coli</i> ufc/g	5	10	500	3	AOAC 998.08
<i>Staphylococcus aureus</i> coagulasa positiva, ufc/g	5	100	1000	2	AOAC 2003.11
Salmonella /25g	5	no detectado	-	0	NTE INEN 1529-15
<i>Vibrio cholerae</i> /25 g	5	no detectado	-	0	ISO/TS 21872-1
<i>Vibrio parahaemolyticus</i> /25 g	5	no detectado			ISO/TS 21872-1

**Fuente:** INEN. 2013

Donde:

n: Número de muestras a examinar.

m: Índice máximo permisible para identificar nivel de buena calidad.

M: Índice máximo permisible para identificar nivel aceptable de calidad.

c: Número de muestras permisibles con resultados entre m y M.

## 2.5 REQUISITOS MICROBIOLÓGICOS SEGÚN NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-093-SSA1-1994, BIENES Y SERVICIOS. PRÁCTICAS DE HIGIENE Y SANIDAD EN LA PREPARACIÓN DE ALIMENTOS QUE SE OFRECEN EN ESTABLECIMIENTOS FIJOS

El control sanitario en la preparación de alimentos que se ofrecen en establecimientos fijos, es el conjunto de acciones de orientación, educación, muestreo y verificación que deben efectuarse con el fin de contribuir a la protección de la salud del consumidor, mediante el establecimiento de las disposiciones sanitarias que se deben cumplir tanto en la preparación de alimentos, como en el personal y los establecimientos, en los puntos críticos presentes durante su proceso; que permitan reducir aquellos factores que influyen durante su preparación en la transmisión de enfermedades por alimentos (ETA) (NOM-093-SSA1. 1994) en la tabla 2 se muestran los límites máximos permisibles de microorganismos para diversos alimentos.

**Tabla 2:** Especificaciones microbiológicas establecidas para diversos alimentos

NOMBRE DEL PRODUCTO	DETERMINACIONES	LÍMITE MÁXIMO PERMISIBLE
Ensaladas verdes, crudas o de frutas *	Mesofilos aerobios UFC/g Coliformes totales NMP/g	150.000 100
Salsas y purés cocidos *	Mesofilos aerobios UFC/g Coliformes totales NMP/g	5.000 50
Alimentos cocinados a base de carne de mamíferos, aves, pescados *	Mesofilos aerobios UFC/g Coliformes totales NMP/g	150.000 menos de 10
Aguas preparadas *	Mesofilos aerobios UFC/g Coliformes totales NMP/g Coliformes fecales NMP/g	150.000 100 Negativo
Queso fresco **	Coliformes fecales NMP/g	100
	Mohos y levaduras (UFC/g)	500
	Salmonella en 25.g	Ausente
	Staphylococcus aureus (UFC/g)	1000
	Listeria monocytogenes en 25.g	Negativo
Zumos, néctares, bebidas a base de frutas y verduras no pasteurizadas ***	Mesofilos aerobios UFC/g Coliformes totales NMP/g	100.000 100

**Fuente:** NOM-093-SSA1. 1994

### **2.1.5 Enfermedades Transmitidas por Pescado**

Las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) son definidas como “Síndromes originados por la ingestión de alimentos y/o agua, que contengan agentes etiológicos en cantidades tales, que afecten la salud del consumidor a nivel individual o grupos de población (OPS-OMS. 1996).

Identifica a este tipo de situaciones la contaminación del alimento, la cual puede ser endógena, o bien ocurrir en algún punto de su transformación; por lo tanto, el agente etiológico debe existir en los animales, vegetales o en el medio ambiente donde se almacena, maneja o procesa el alimento (Parrilla, M. et al. 1993).

Durante el período 1995-1999 se presentaron en 19 países de América Latina y el Caribe, 3.751 brotes de enfermedades transmitidas por alimentos con 117.493 enfermos y 212 fallecidos. Destacan como agentes causales de estos brotes, las toxinas marinas (34%) y las bacterias en un 52% (8). La gravedad de estas enfermedades ha originado la necesidad de disponer de programas de vigilancia de la calidad de expendios y consumo de estos alimentos, en la mayoría de los países (Ríos, M. et al. 1999)

## **2.5 EL MANGO**

El mango (*Mangifera indica L.*) es una de las frutas tropicales más sustanciales en el mundo en términos de producción y aceptación del consumidor, se cultiva en más de 100 países. (Berardini et al, 2005) Es una fruta popular y económicamente importante en varias partes del mundo debido a sus excelentes propiedades sensoriales (color brillante, sabor dulce y delicioso sabor) y composición nutricional (vitaminas, minerales, fibra y fitoquímicos) (Kim et al. 2007).

### 2.5.1 Valor Funcional

El mango no solo es rico en estos nutrientes, sino que además tienen altos contenidos de otros fitoquímicos que no son nutrientes y confieren un beneficio a la salud; razón por la cual su consumo es esencial para que el organismo humano funcione en forma adecuada<sup>36-38</sup>. Dicho lo anterior, sus componentes funcionales se pueden agrupar en dos principales grupos: A) Ingredientes funcionales nutritivos (como los mencionados en la Tabla I) Ingredientes funcionales no nutritivos (e.g. fibra dietaria y CF). En lo que a CF y vitaminas antioxidantes ( $\beta$ -CAT,  $\alpha$ -tocoferoles y AA) se refiere, distintos factores genéticos y ambientales modifican su cantidad en el mango: Condiciones de cultivo, el estado de maduración del fruto, exposición a la luz por mencionar solo algunos ejemplos (Abraham, WM. Et al. 2014).

Es uno de los frutos más apetecidos mundialmente para consumo en fresco, por su delicioso sabor y su alto valor nutritivo (Chiumarelli *et al.* 2011). Se ha reportado que es una importante fuente de ácido ascórbico, carotenoides y de compuestos fitoquímicos, entre ellos, los polifenoles, como galato de metilo, ácido gálico y ácido digálico y flavonoides, principalmente, quercetina y derivados de kaempferol, mangiferina e isómeros (Pierson *et al.* 2014). Por ser un fruto climatérico, la madurez organoléptica o de consumo la adquiere después de cosechado, entre los días seis y diez, en función de la variedad y del medio de almacenamiento. En este periodo presenta su principal pico respiratorio, que se identifica por el incremento de la actividad respiratoria, lo que desata la cascada de cambios en el color, el olor, el sabor y la textura (Pérez *et al.* 2004).

El mango reconocido por su atractivo color, delicioso sabor y sabor exótico, es una rica fuente de carotenoides y proporciona altos contenidos de ácido ascórbico y compuestos fenólicos, y ha sido reconocido como 'rey de la fruta' en el Oriente. (Pott *et al.* 2003), tiene propiedades para inhibir el inicio de la carcinogénesis en el colon, posiblemente atribuible a los compuestos bioactivos presentes. (Corrales *et al.* 2014)

## **2.5.2 Origen**

Según Kosterman y Bompard (1993) citado por Mora et al. (2002), el mango puede haberse originado en la zona comprendida entre Asma (India) y la antigua Birmania (hoy Nyanmar) donde aún existen poblaciones silvestres. Se estima que la mayoría de los cultivares comerciales provienen de materiales importados de la India donde hoy día se tienen reportados 998 cultivares avanzados procedentes de la India y Sr Lanka y 102 cruces de mango.

## **2.5.3 Maduración del Mango**

La maduración del mango se caracteriza por una serie de transformaciones químicas que determinan los cambios de sabor, consistencia, color y aroma. Las sustancias acumuladas durante el desarrollo se transforman de manera lenta y progresiva en compuestos químicos que en su gran mayoría son de alto peso molecular como lo son los polisacáridos, además de los pigmentos y sabores característicos de cada fruto, esto ocurre hasta que el fruto alcanza las condiciones de aroma y jugosidad que permita clasificarlo como maduro. El pH y la acidez son dos de los parámetros con mayor variabilidad debido que los ácidos orgánicos contenidos en el fruto verde se van transformado o degradando a medida que el fruto respira. (Quintero, V. et al. 2013)

## **2.5.4 Exigencias del Cultivo**

### **2.5.4.1 Temperatura**

Su temperatura optima de crecimiento es aproximadamente 24°- 27°C, en suelos cuyo pH esté alrededor de 5.5-7.5 (35). (Ospina et al.2012)

### **2.5.4.2 Humedad Relativa**

La humedad ideal oscila entre 40 y 60 %

### **2.5.4.3 Vientos**

Los vientos excesivos (superiores a 10 km / h) son perjudiciales ya que causan la caída de flor y frutos pequeños. (BCE. 2008)

## **2.5.5 Partes Anatómicas del Mango: Pulpa y Cáscara**

### **2.5.5.1 La Pulpa**

Es la parte comestible de las frutas o el producto obtenido de la separación de las partes comestibles carnosas de estas mediante procesos tecnológicos adecuados. (Astrid, C. 2008)

El rendimiento de la pulpa es alto, entre 60 y 75% del peso total del fruto, y es utilizada en la industria de refrescos, néctares, compotas y concentrados. (Ortega et al. 2015).

### **2.5.5.2 La Cáscara**

Es la capa protectora de una fruta o vegetal, del cual puede desprenderse. (Lexicoo. 2017).

Durante el procesamiento industrial del mango la piel es un subproducto que genera grandes cantidades. Según el profesor Hugo A. Martínez (2013), se trata de un subproducto importante y poco aprovechado, a pesar de su contenido de compuestos bioactivos como polifenoles y carotenoides de importancia para la salud humana por sus múltiples efectos biológicos como antioxidantes.

Frutas y las verduras contienen muchos compuestos antioxidantes, que incluyen compuestos fenólicos, carotenoides, antocianinas y tocoferoles (Naczk y Shahidi, 2006). Especialmente, las cáscaras de fruta son ricas en compuestos polifenólicos, flavonoides, ácido ascórbico y muchos otros componentes biológicamente activos que tienen influencias positivas en la salud (Daza, LD. 2014).

### **2.5.6 Aspectos Agroindustriales**

Del total de la producción de este fruto, 13.5% se destina a la industrialización: En 2011 se generaron 194 mil toneladas de jugos y casi 16 mil toneladas de conservas de mango, aunque una buena parte es consumida en fresco o derivados secos. Aparte de estas cifras, la industria de procesamiento mínimo de alimentos ha reforzado a la agroindustria del mango, mediante la transformación a pulpa de mango (MP) “listo para consumir”. Sin embargo, pese a que la demanda de mangos mínimamente procesados tiene un crecimiento exponencial, todavía existen varios problemas asociados a su baja vida de anaquel y calidad microbiológica de su pulpa (MP), así como la generación de residuos agroindustriales como lo son su cáscara (MC) y semilla (MS).

Sobre este respecto, la generación de residuos del procesamiento mínimo de alimentos tropicales oscila entre un 20 y un 65% del peso total en papaya y piña<sup>21</sup> mientras que para el caso del mango (MC+MS) es de un 32%<sup>29</sup> (Abraham, WM. Et al. 2014).

La valorización de los desechos provenientes tanto del procesamiento como de la cadena productiva del mango puede presentar diversas limitantes. Una de las importantes es su posible contaminación microbiana, ya que una vez iniciado un proceso de descomposición su transformación a un producto de mayor valor agregado será difícil. Así mismo, es indispensable que la cáscara de mango no presente rastros de fertilizantes o recubrimientos tóxicos, lo que implica prácticas agrícolas sustentables y sostenibles. Por lo cual, desde el punto de vista económico la mayor limitante para la explotación de estos desechos son los costos de manejo, estabilización, transporte y almacenamiento (Schieber et al., 2004).

En la industria alimenticia se desechan los subproductos agroindustriales de mango, olvidando que estos son una fuente importante de polifenoles con propiedades antioxidantes que ayudan en la prevención de enfermedades, aprovechando de

esta manera los nutrientes y evitando la contaminación. (Vintimilla Gualán, MG. 2013).

## **2.6 ANTIOXIDANTES DE USO ALIMENTARIO**

Los Antioxidantes son compuestos los cuales pueden inhibir o retardar la oxidación de otras moléculas inhibiendo la iniciación y/o propagación de las reacciones en cadena de los radicales libres. Los antioxidantes se dividen en dos categorías principalmente que son: sintéticos y naturales. En general los antioxidantes sintéticos son compuestos de estructuras fenólicas con varios grados de sustitución alquílica, mientras que los antioxidantes naturales pueden ser: compuestos fenólicos (tocoferoles, flavonoides y ácidos fenólicos), compuestos nitrogenados (alcaloides, derivados de la clorofila, aminoácidos y aminas) o carotenoides, así como el ácido ascórbico. (Velioglu G, et al. 1998).

Las nuevas tendencias tecnológicas se han enfocado en la producción de alimentos reestructurados y funcionales a partir de compuestos activos como antioxidantes, vitaminas, aminoácidos, minerales e incluso de pequeñas moléculas como células, enzimas y microorganismos probióticos beneficiosos para la salud, y por tanto, de su conservación en los alimentos durante el procesamiento y almacenaje (Parra Huertas, 2010).

Los antioxidantes constituyen un tipo de aditivos alimentarios destinados a “impedir o retardar, las oxidaciones catalíticas y el enranciamiento natural o provocado por la acción de diversos agentes (aire, luz, calor...)”. Los antioxidantes pueden obtenerse mediante síntesis química, o pueden ser extraídos de fuentes naturales. (Plazos Palmeiro M. 2005)

### **2.6.1 Proceso de Oxidación que Ocurre en los Alimentos**

La reacción espontánea de los lípidos con el oxígeno atmosférico es conocido como auto oxidación y es el proceso que normalmente conduce al deterioro oxidativo de los alimentos. (Pokorny, J. et al. 2001)

### **2.6.2 Antioxidantes: Definición**

Los antioxidantes son sustancias químicas que se caracterizan por impedir o retrasar la oxidación de diversas sustancias principalmente de los ácidos grasos cuyas reacciones se producen tanto en los alimentos como en el organismo humano, en el cual puede provocar alteraciones fisiológicas importantes desencadenantes de diversas enfermedades (Zamora, JD. 2007).

### **2.6.3 Propiedades Antioxidantes**

Las propiedades antioxidantes no sólo deben estudiarse por sus interacciones químico-biológicas, sino por su función en el deterioro oxidativo que afecta a los alimentos (Pastene, E. 2009). Se utilizan en la industria alimentaria adicionados a las grasas u otros productos para retrasar los procesos de oxidación, en tanto previenen el comienzo de la rancidez oxidativa (Llancari, A. y Matos, A. 2011)

### **2.6.4 Actividad Antioxidante**

Es el mecanismo de acción que poseen las sustancias antioxidantes ante la presencia de radicales libres y tienen la capacidad de impedir la degradación oxidativa.

Ante lo expuesto anteriormente ¿Que son los radicales libres?

Los radicales libres se definen como cualquier especie química capaz de existir de forma independiente y que presenta uno o más electrones desapareados en su estructura, por lo tanto, son altamente reactivos. Éstos pueden producir daño oxidativo en macromoléculas biológicas como el DNA, lípidos, carbohidratos y proteínas (Leos-Rivas, C. et al. 2016)

Estudios previos han demostrado que el contenido de compuestos fitoquímicos y capacidad antioxidante es mayor en las cáscaras y semillas que en los tejidos comestibles (Vega Vega, V. 2011) Así, se ha reportado que el contenido de fenoles totales en las cáscaras de limones, naranjas y pomelos fue 15% mayor que el de la pulpa de estas frutas (Gorinstein y col., 2001).

Torunn Stangeland, et al. (2009) en su estudio sobre el análisis de la actividad antioxidante (AA) en frutas y verduras de Uganda y si la AA en los alimentos tradicionales son lo suficientemente alto como para prevenir el estrés oxidativo demostró, que el contenido de actividad antioxidante para la pulpa de mango es de 1.62 mmol/100g como se evidencia en la tabla 3.

**Tabla 3:** Actividad antioxidante en frutas seleccionadas

Common name	Antioxidant content		Place of origin in reference
	Present study(mmol/100 g)	Reference study*(mmol/100 g)	
Pomegranate	10.5	11.3	Spain
Chilli pepper	2.91	2.46	Holland
Mango	1.62	0.35	America, Pakistan
Orange	1.28	1.14	Spain
Lemon	0.69	1.02	Spain
Banana	0.58	0.2	Costa rica
Tomato	0.37	0.31	Netherlands, Spain
Avicadi	0.34	0.41	Spain, Israel
Pineapple	0.33	0.39	Ivory Coast
Eggplant	0.15	0.17	Netherlands, Italy, Mali

**Fuente:** Torunn Stangeland, et al. 2009.

Otro estudio realizado por Vintimilla Gualán, MG (2013). determinó la actividad antioxidante de las fracciones lipofílicas (debido a componentes liposolubles) e hidrofílicas (debido a componentes hidrosolubles) de los subproductos agroindustriales de mango y se evidencio que la mayor actividad antioxidante de la

fracción hidrofílica correspondió a la extraída con etanol donde se obtuvo una Actividad antioxidante en la cascara de mango de 167,26  $\mu\text{mol TEAC/g MS}$  mediante el método ABTS.

## **2.7 COMPUESTOS FENÓLICOS**

Son un gran grupo de compuestos presentes en verduras y frutas, ejerciendo una potente acción antioxidante, la cual es necesaria para el funcionamiento de las células vegetales (Avello & Suwalsky 2006). Los compuestos fenólicos constituyen uno de los grupos de micronutrientes presentes en el reino vegetal, siendo parte importante de la dieta tanto humana como animal; forman un amplio grupo de sustancias químicas, con diferentes estructuras y actividad, englobando más de 8000 compuestos distintos (Martinez et al. 2000).

Los polifenoles son los principales compuestos vegetales con actividad antioxidante, aunque no los únicos. Además, otras propiedades biológicas tales como anticarcinógenos, anti-mutagénicos, anti-alergénicos y la actividad antienviejimiento han sido reportados para antioxidantes naturales y sintéticos (Rodríguez, A. 2015). Los antioxidantes de origen fenólico son capaces de detener la reacción en cadena de los radicales libres gracias a su capacidad de donar hidrógeno a partir de los grupos hidroxilo fenólicos, formando así el producto final estable (Gómez, R. et al. 2012).

La estructura química de los compuestos fenólicos consiste en al menos un anillo aromático con un grupo variable de grupos hidroxilos, que determinan su capacidad antioxidante (Balasundram et al., 2006; Khoddami et al., 2013)

Los compuestos fenólicos están relacionados con la calidad sensorial de los alimentos de origen vegetal, fresco y procesado. Actualmente este grupo fotoquímicos es de gran interés nutricional por su contribución al mantenimiento de la salud humana (Clifford. 1992)

Diversos investigadores han atribuido que las propiedades de los fenoles contribuyen a prevenir enfermedades crónicas de alta incidencia, como el cáncer y enfermedades cardiovasculares. Por lo que existe gran interés por parte de la industria alimentaria en incorporarlos como nutraceuticos (Nevue et al., 2010; Rothwell et al., 2013) para la prevención de estas enfermedades.

Los compuestos fenólicos intervienen como antioxidantes naturales en los alimentos, por lo que la obtención y preparación de productos con un alto contenido de estos compuestos supone una reducción en la utilización de aditivos antioxidantes, pudiendo incluso englobarlos dentro de los llamados alimentos funcionales.

Desde un punto de vista funcional, esta actividad antioxidante se asocia con su papel protector en las enfermedades cardiovasculares y el cáncer (Berra et al. 2005).

En un estudio sobre de las actividades antioxidantes y atiproliferativas del mango (*Mangifera indica L.*) carne y cáscara, Hana Kim et al. (2010) demostró que el extracto de cáscara de mango exhibió una mayor capacidad de eliminación de radicales libres que el extracto de carne de mango, independientemente de la madurez ya que el contenido polifenólico para pulpa de mango maduro (RMF) fue de 26.9 mg GAE/g), y el de la cáscara de mango maduro (RMP) fue de 70.1 mg GAE/g.

**Tabla 4:** Efectos de extractos etanólicos de pulpa de mango verde (UMF), cáscara de mango verde (UMP), *pulpa de mango maduro (RMF)*, *cáscara de mango maduro (RMP)*.

Total phenolic and total flavonoid content of mango extracts	
Samples	Total phenolic content (mg GAE/g)
UMF	27.8 +- 2.21
UMP	92.6 +- 3.40
RMF	26.9 +- 3.76
RMP	70.1 +- 4.61

**Fuente:** Hana Kim et al. 2010.

Según otro estudio los principales ácidos fenólicos cuantificados por HPLC-DAD en mango pulpa fueron ácidos clorogénico, gálico, vanílico y protocatecúico. El contenido de estos ácidos fenólicos se cuantificó en los cuatro RS. El ácido clorogénico fue el más abundante en 'Ataulfo' pulpa de mango, seguida de ácido gálico.

### 2.7.1 División de los Compuestos Fenólicos

Los tres grupos más importantes en los que se dividen los compuestos fenólicos son: flavonoides, ácidos fenólicos y polifenoles. Químicamente los fenoles pueden ser definidos como sustancias que poseen un anillo hidroxilo, incluyendo a sus derivados funcionales.

Los fenoles simples como el fenol, cresol, timol y resorcinol están ampliamente distribuidos entre todas las especies vegetales. Igualmente, los ácidos fenólicos como el gálico, vainillinico, p-hidroxibenzoico. (Martínez et al. 2000). Los ácidos fenólicos presentan generalmente actividad antioxidante en fruta, verduras y otras plantas. (Zhen y Wang 2001)

## **2.8 ENCAPSULACIÓN**

El concepto de encapsulación se ha fundamentado en la incorporación de una matriz polimérica, la cual forma un ambiente capaz de controlar su interacción con el exterior. La técnica de micro encapsulación ha sido descrita como un proceso en donde pequeñas partículas o gotas son rodeadas por un recubrimiento homogéneo o heterogéneo integrado a las cápsulas con variadas aplicaciones (Borgogna *et al.*, 2010).

### **2.8.1 Aplicaciones de la Micro Encapsulación**

Las aplicaciones de la micro encapsulación se dirigen a la industria, se da a la industria textil, metalúrgica, química, alimenticia, cosméticos, farmacéutica y medicina. La micro encapsulación es definida como una tecnología de empaquetamiento de materiales sólidos, líquidos o gaseosos. Las micro cápsulas selladas pueden liberar sus contenidos a velocidades controladas bajo condiciones específicas, y pueden proteger el producto encapsulado de la luz y el oxígeno. La micro encapsulación consiste en micro partículas conformadas por una membrana polimérica porosa contenedora de una sustancia activa (Parra Huertas, RA. 2010) La industria requiere de tecnologías que protejan los pigmentos naturales del ambiente, debido a su inestabilidad en la presencia de luz, aire, humedad y altas temperaturas. Actualmente, una alternativa es la tecnología de la micro encapsulación (Parize *et al.*, 2008).

### **2.8.2 Procesos para la Gelificación Iónica**

Existen dos procesos para la gelificación iónica estos son: gelificación interna y externa

#### **2.8.2.1 Gelificación Externa**

El proceso de gelificación externa ocurre con la difusión del ión calcio desde una fuente que rodea al hidrocóide hacia la solución de alginato de pH neutro. La formación del gel se inicia en la interfase y avanza hacia el interior a medida que la

superficie se encuentra saturada de iones calcio, de manera que el ión sodio proveniente de la sal de alginato es desplazado por el catión divalente solubilizado en agua (Helgerud et al., 2010).

#### **2.8.2.2 Gelificación Interna**

El proceso de gelificación interna consiste en la liberación controlada del ión calcio desde una fuente interna de sal de calcio insoluble o parcialmente soluble dispersa en la solución de alginato de sodio. Los mecanismos de gelificación iónica son descritos en la Fig. (Helgerud et al., 2010).

#### **2.8.3 Alginato: Encapsulante**

El alginato ha sido uno de los polímeros más empleado en la micro encapsulación, esta forma una matriz altamente versátil, biocompatible y no tóxica para la protección de componentes activos, células o microorganismos sensibles al calor, pH, oxígeno y luz, entre otros factores, a los que son expuestos los alimentos durante el procesamiento y almacenaje. (Gonzales, C. et al. 2012)

El proceso de formación del gel se inicia a partir de una solución de sal de alginato y una fuente de calcio externa o interna desde donde el ión calcio se difunde hasta alcanzar la cadena polimérica, como consecuencia de esta unión se produce un reordenamiento estructural en el espacio resultando en un material sólido con las características de un gel. El grado de gelificación depende de la hidratación del alginato, la concentración del ión calcio y el contenido de los G-bloques (Funami *et al.*, 2009)

#### **2.8.4 Técnicas de Micro encapsulación**

La micro encapsulación de pequeñas moléculas como enzimas hasta células y microorganismos puede realizarse por diferentes técnicas. La selección de la técnica de encapsulación adecuada se ve determinada por las propiedades fisicoquímicas del material soporte y la aplicación final deseada con el objeto de

asegurar la biodisponibilidad de los compuestos, su funcionalidad e incluso su fácil incorporación en los alimentos sin la alteración de sus propiedades sensoriales (Pal et al., 2009).

El alginato es un polímero extraído a partir de algas y utilizado como un agente encapsulante; tiene como características: no tóxico, biocompatible, y facilidad de solubilización (por  $\text{Ca}^{++}$  secuestrante) (Nazzaro et al., 2009).

Al emplear el alginato como matriz polimérica, las técnicas de microencapsulación en aplicaciones alimentarias se reducen a: extrusión, emulsión y secado por atomización. (Gonzales, C. et al. 2012)

#### **2.8.4.1 Encapsulación por Extrusión**

La técnica consiste en la formación de gotas de la solución de alginato que contiene el componente a encapsular al hacer pasar dicha solución por un dispositivo extrusor de tamaño y velocidad de goteo controlado. Estas gotas caen sobre un baño que contiene la fuente del ión divalente, quien induce la gelificación mediante el mecanismo de gelificación externa (Chan et al., 2009).

#### **2.8.4.2 Encapsulación en Emulsión**

La técnica de encapsulación en emulsión se ha definido como el proceso de dispersión de un líquido en otro líquido inmiscible donde la fase dispersa consta de la matriz que incluye el componente a encapsular. La adición de un tensioactivo mejora la formación y estabilidad de la emulsión, así como la distribución de tamaño de las gotas (Poncelet. 2001)

La principal limitación presentada por esta técnica ha sido el gran tamaño de las microcápsulas, lo cual depende del diámetro de la boquilla del dispositivo extrusor. Entre otras desventajas, la dificultad de producción a gran escala debido a que la

formación de las microcápsulas se logra una a una lo cual trae como consecuencia largos tiempos de gelificación (Mofidi et al., 2000).

Adicionalmente, es de considerar aspectos que influyen en su forma esférica y tamaño como la distancia de separación de la boquilla al baño, el efecto de la gravedad y la tensión superficial de la solución que induce la gelificación (Chan et al., 2009). A pesar de todos estos factores, la técnica de microencapsulación por extrusión ha sido empleada tradicionalmente al permitir la producción de microcápsulas con tamaños uniformes.

Recientes estudios, demuestran que la aplicación de esta técnica mejora notablemente al incorporar dispositivos extrusores como boquillas múltiples y discos aspersores (Champagne et al., 2000), inyectoros con impulsos vibratorios (Dohnal y Štěpánek, 2010) e incluso con flujo de aire incorporado (Mark et al., 2009), todos diseñados bajo el mismo objetivo, la producción masiva de microcápsulas. Como ejemplo, en la (Anexo 1) (Figura 1) se muestran diferentes tipos de dispositivos extrusores para la preparación de microcápsulas (Zuidam y Shimoni, 2010).

#### **2.8.4.3 Encapsulación Mediante Secado por Atomización**

El secado por atomización ha sido una tecnología ampliamente usada por la industria debido a su reproducibilidad y economía.

El procedimiento consiste en la preparación de una emulsión o suspensión que contenga al compuesto a encapsular y el material polimérico, el cual es pulverizado sobre un gas caliente que generalmente es aire promoviendo así la evaporación instantánea del agua, permitiendo que el principio activo presente quede atrapado dentro de una película de material encapsulante (Anexo 2) (Figura 2) (Martín Villena et al., 2009).

## **2.9 EMPLEO DE LAS PLACAS PETRIFILM™ EN LA INDUSTRIA DE ALIMENTOS.**

Estás placas se han diseñado para el recuento de unidades formadoras de colonias (UFC) en diferentes tipos de muestras entre ellas el agua y los alimentos. Estas placas son láminas delgadas con un medio de cultivo y un agente solidificante soluble en agua. Algunas placas también pueden estar recubiertas por una película de polipropileno para atrapar el gas producido por algunas bacterias. También tienen incorporado indicadores de pH que colorean las colonias para facilitar su identificación y están constituidas por cuadrículas para hacer el recuento de las UFC (3M. 2017)

### **2.9.1 Placas Petrifilm™ para el Recuento de Aerobios (Aerobic Count AC)**

Son un medio de cultivo listo para ser empleado, que contiene nutrientes del Agar Standard Methods, un agente gelificante soluble en agua fría, y un tinte indicador de color rojo que facilita el recuento de las colonias. Las Placas Petrifilm AC se utilizan para el recuento de la población total existente de bacterias aerobias en productos, superficies, etc. (3M. 2017)-

### **2.9.2 Placas Petrifilm™ para el Recuento de E. Coli/Coliformes**

Las Placas Petrifilm™ para el Recuento de E.coli/Coliformes (Placa Petrifilm EC) contienen nutrientes de Bilis Rojo Violeta (VRB), un agente gelificante soluble en agua fría, un indicador de actividad de la glucuronidasa y un indicador que facilita la enumeración de las colonias. La mayoría de las E. coli (cerca del 97%) produce beta-glucuronidasa, la que a su vez produce una precipitación azul asociada con la colonia. La película superior atrapa el gas producido por E. coli y coliformes fermentadores de lactosa. Cerca del 95% de las E. coli producen gas, representado por colonias entre azules y rojo-azules asociadas con el gas atrapado en la Placa Petrifilm EC (dentro del diámetro aproximado de una colonia). (3M. 2017)

La AOAC Internacional y el Manual de Análisis Bacteriológico de la FDA de los Estados Unidos definen los coliformes como colonias de bastoncillos gram-negativos que producen ácido y gas de la lactosa durante la fermentación metabólica de la lactosa. Las colonias coliformes que crecen en la Placa Petrifilm EC, producen un ácido que causa el oscurecimiento del gel por el indicador de pH. El gas atrapado alrededor de las colonias rojas de coliformes confirma su presencia. (3M. 2017).

# CAPITULO III

## METODOLOGÍA

### 3.1 UBICACIÓN DEL PROYECTO

El presente estudio se realizó durante el primer periodo del año 2018, en el Laboratorio de Investigación de Ciencias de los Alimentos de la Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí. Ubicado en la ciudad de Manta (Latitud 0°57'4"S y de Longitud 80°44'44"W y Altitud aproximada de 56 m.s.n.m) y los análisis microbiológicos se llevaron a cabo en la empresa **GONDI S.A.** Procesadora y comercializadora de productos del mar, ubicada en el Km 5 1/2 Vía Manta – Montecristi.

### 3.2 VARIABLES EN ESTUDIO

#### 3.2.1 Variables Dependientes

- Concentración de compuestos fenólicos
- Actividad antioxidante
- Crecimiento de mesófilos aerobios
- Crecimiento de coliformes
- Crecimiento de E. coli

#### 3.2.2 Variables Independientes

- Forma de protección de los compuestos fenólicos
- Parte anatómica del mango

### 3.3 FACTORES EN ESTUDIO

FACTOR Factor A: forma de protección de los compuestos fenólicos

**A1:** Sin encapsulación

**A2:** Con encapsulación

FACTOR Factor B: parte anatómica

**B1:** Pulpa

**B2:** Cáscara

### 3.4 TRATAMIENTOS

En la **tabla 5** se presentan la combinación de los factores de estudio que se evaluaron en la investigación: forma de protección de los compuestos fenólicos y parte anatómica del mango

**Tabla 5:** Tratamientos del estudio

<b>TRATAMIENTOS</b>	<b>FORMA DE PROTECCIÓN DE LOS COMP. FENÓLICOS</b>	<b>PARTE ANATÓMICA</b>
T1	Sin encapsulación	Pulpa
T2	Sin encapsulación	Cáscara
T3	Con encapsulación	Pulpa
T4	Con encapsulación	Cáscara
T5	Control	

Fuente: Acuña, L. 2018

### 3.5 DISEÑO EXPERIMENTAL

#### 3.5.1 Tipo de Diseño

La investigación que se realizó fue bibliográfica y experimental, el diseño a utilizar fue Completamente al Azar (DCA) en arreglo Bifactorial.

#### 3.5.2 Número de Repeticiones

En esta investigación se realizaron tres repeticiones por cada tratamiento.

### 3.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

En la investigación se realizó un análisis de varianza (ADEVA) con 5% de error para establecer la existencia de la diferencia significativa entre los tratamientos y una prueba de comparación Tukey, para determinar la diferencia estadística significativa entre las medias utilizado un grado de significación . Y para la interpretación de los resultados se empleó el programa estadístico INFOSTAT, Versión Profesional 2015.

**Tabla 6:** Esquema del análisis de varianza del estudio

F. de VariaciónTabla		
Total		G.L
Tratamientos	(t * r - 1)	14
Repeticiones	(t - 1)	4
Factor A		2
Factor B	2	
Interrelación (A*B)	2	
Control	4	
Error Experimental	1	

**Fuente:** Acuña, L. 2018

Error

Coefficiente de variación (%)  $CV = \frac{\sqrt{CM\ ERROR}}{\bar{x}} * 100$

### 3.7 MANEJO DEL EXPERIMENTO

Mangos (*Mangifera indica*) de la variedad Haden provenientes del sitio miguelillo perteneciente a la parroquia Calderón del cantón Portoviejo fueron seleccionados, lavados y separados (pulpa y cáscara) cuidadosamente para después ser sometidos a secado mediante una estufa y posteriormente triturados hasta obtener una muestra en polvo de cáscara y pulpa la cual se utilizó para la extracción de compuestos fenólicos en etanol al 95% una vez extraídos los compuestos fenólicos se tomaron para la preparación de las cápsulas 1.05ml de extracto de pulpa y 1.05ml

de extracto de cáscara se mezcló con alginato de sodio al 1,8% las capsulas que contenían extracto de cáscara fueron añadidas a un recubrimiento comestible de almidón de yuca en relación 1g de capsula en 99ml de recubrimiento así mismo, cápsulas que contenían extracto de pulpa fueron añadidas a un recubrimiento comestible de almidón de yuca en relación 1g de cápsula en 99ml de recubrimiento. Los extractos sin encapsular de pulpa y cáscara fueron añadidos directamente al recubrimiento de almidón de yuca en relación al contenido de extracto por cada g de cápsula. Es decir, se calculó la cantidad de extracto que contenía 1g de capsula y tomando el valor obtenido se procedió a realizar el recubrimiento al 99%.

Filetes de pescado albacora (*Thunnus albacares*) fueron acondicionados a una dimensión de 11 cm x 7 cm y espesor de 0,8 cm según Santacruz, S. et al. 2011. Y los diferentes tratamientos explicados en la **tabla 5** fueron sumergidos durante 30 segundos en el recubrimiento previamente obtenido, los mismos que fueron colocados según el tipo de tratamiento en bandejas de aluminio. Posteriormente se evaluó el crecimiento de mesófilos aerobios, E. Coli y coliformes en laboratorios de microbiología durante 3 días simulando la forma de comercialización que realizan los comerciantes de pescado en la ciudad de Manta; manteniendo expuestos al ambiente los filetes de pescado durante 8 horas y luego se guardaron en congelación por 16 horas este procedimiento se realizó por un periodo de 3 días.

### **3.8 MÉTODO DE EVALUACIÓN**

#### **3.8.1 Determinación de las Propiedades Físico-Químicas del Mango**

La concentración de sólidos solubles en mango se determinó por el método AOAC 932.12 (AOAC, 1990), utilizando un refractómetro digital, la acidez titulable por el método AOAC 942.15 (AOAC, 1990), el pH según método AOAC 981.12/90 (AOAC, 1990) con pH metro. El cálculo del índice de madurez (IM) se determinó como la relación entre sólidos solubles y acidez titulable.

### **3.8.2 Extracción Total de Compuestos Fenólicos**

La extracción se llevó a cabo de acuerdo con el método propuesto por Espinoza, A. y Santacruz, S. (2013) con algunas modificaciones. Donde las muestras de pulpa y cáscara de mango se sometieron a secado durante 24 horas a 70°C en una estufa, posteriormente las muestras fueron molidas hasta un tamaño de partícula aproximado a 170 µm. Cada una de las muestras de polvo (10 gramos) se disolvieron en 100 ml de etanol (95% v/v) en un matraz de Erlenmeyer, sin presencia de luz se mantuvieron en un agitador magnético durante 24 horas a temperatura ambiente y 130 RPM. Pasadas las 24 horas cada muestra se colocó en la centrifugadora por 10min a 4000 RPM, este residuo líquido se ubicó en un matraz kitasato y se filtró al vacío, así obtuvimos un líquido concentrado.

### **3.8.3 Cuantificación de Compuestos Fenólicos**

Los compuestos fenólicos totales se determinaron de acuerdo con el método de Folin-Ciocalteu propuesto por Espinoza, A. y Santacruz, S. (2013) con algunas modificaciones. Para la solución madre se mezcló el líquido concentrado extraído de cada una de las muestras 10ml con 5 ml de etanol (95% v/v) y agua destilada se afora a 100ml.

Se tomó 0,1ml de la solución madre y se mezcló con 0.5 ml de reactivo de Folin-Ciocalteu dejando en reposo durante 5 min. Una vez transcurridos los 5 minutos se añadió 1 ml de solución de carbonato de sodio al 5% y se aforó a 25 ml. La solución se dejó reposando en la oscuridad durante 1 hora.

Se tomaron 3ml de la solución resultante en una cubeta y se midió la absorbancia a 760 nm en el espectrofotómetro.

#### **3.8.3.1 Curva de Calibración con Ácido Gálico**

La cuantificación de los compuestos fenólicos totales se realizó usando una curva de calibración utilizando ácido gálico como estándar (2gr de Ac. Gálico/100 ml H<sub>2</sub>O

d.). Todos los tratamientos se realizaron por triplicado y los resultados se expresaron en mg de GAE (equivalente de ácido gálico) / gr cacao

La curva de calibración se realizó con una solución estándar para la cual se mezclaron 10ml de la solución a base de ácido gálico con 5ml de etanol y se aforó a 100 ml.

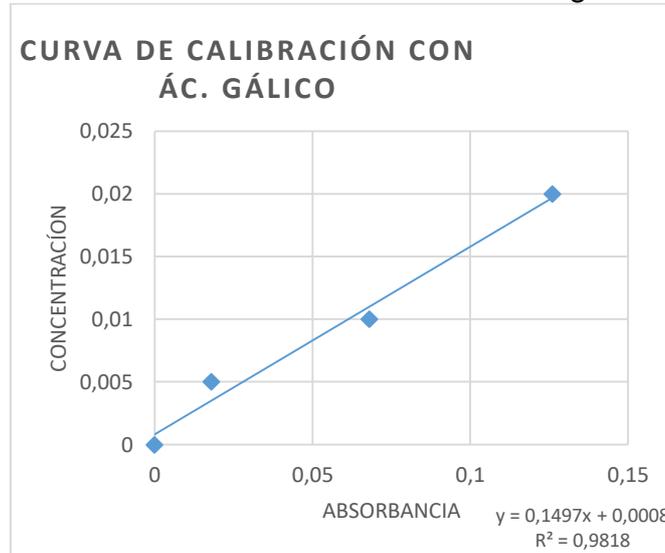
Posteriormente se realizaron dos soluciones, para la primera (estándar cero) se toman 0,5 ml de Folin con 1ml de la solución de bicarbonato de sodio y se afora a 25 ml. Para la segunda se mezclaron 0.125 ml de la solución estándar con 0.5ml de Folin y se dejó en reposo por 5min, posteriormente se agregó 1ml de la solución de bicarbonato de sodio y se afora a 25ml, estas dos soluciones se dejaron reposar por 1hora en la oscuridad. La segunda solución se diluyó a 3 concentraciones distintas (1:20, 1:10 y 1:5) y se midió la absorbancia de cada una, obteniendo los siguientes resultados:

**Tabla 7:** Absorbancia a distintas concentraciones de solución estándar y folin

Numero de tabla Curva de calibración		Absorbancia	Concentración
Diluciones	<b>ml sol. muestra /ml H<sub>2</sub>O<sub>d</sub></b>	<b>0</b>	<b>0</b>
<b>1:20</b>	0.1/20	0,018	0,005
<b>1:10</b>	0.1/10	0,068	0,01
<b>1:5</b>	0.1/5	0,126	0,02

**Fuente:** Mantuano, W. 2018.

**Grafico 1:** curva de calibración con ácido gálico



**Fuente:** Mantuano, W. 2018.

Utilizando la fórmula obtenida a partir de los datos anteriores, reemplazamos los valores de “x” (Absorbancia) y obtenemos los valores de “y” (concentración) de cada muestra y repetición.

Para obtener la cantidad de compuestos fenólicos totales por cada gramo de muestra se hizo un conteo de regresión de acuerdo a los pasos realizados en el método.

### 3.8.4 Determinación de la Actividad Antioxidante

La actividad antioxidante será medida en las muestras como compuestos fenólicos totales por medio del ensayo TEAC modificado, usando la decoloración por el radical catión ABTS (ácido 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico) y expresada finalmente como mg Trolox/gr muestra (Re *et al.*, 1999).

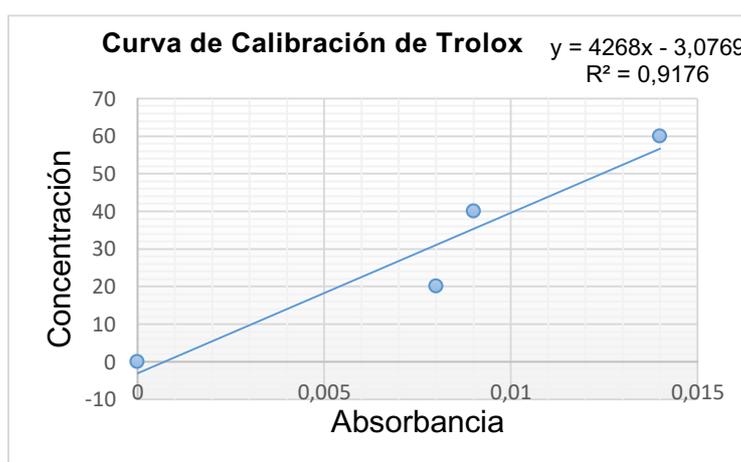
El radical  $ABTS^{•+}$  se prepara mediante la reacción acuosa de persulfato de potasio 2,45 mM y ABTS 7 mM. Se diluyen 0,0384 gr de ABTS en 10 ml de agua destilada y 0,062 gr de Persulfato de Potasio en 100ml, se mezclan a partes iguales y se dejan reposar en la oscuridad por 16h a 20°C. La solución de  $ABTS^{•+}$  obtenida es

estable durante dos días y se diluirá con etanol (95%) hasta obtener una absorbancia de 0,70 ( $\pm$  0,1) a 734 nm 30°C, el resultado de absorbancia obtenido fue 0,75.

### 3.8.4.1 Curva de Calibración con Trolox

La curva de calibración se realizó con la dilución de Trolox. Para la solución madre se diluyen 0,01gr de Trolox en 5ml de metanol y 5ml de agua destilada. Se coloca en la celda 2ml de la solución de radical ABTS<sup>•+</sup>, y se registran las absorbancias iniciales, luego se añade 20  $\mu$ L de tres concentraciones (20  $\mu$ M, 40  $\mu$ M, y 60  $\mu$ M) de soluciones del estándar Trolox, y se toman las absorbancias a 734 nm, obteniendo la siguiente gráfica:

**Grafico 2:** Curva de calibración de trolox



Fuente: Mantuano, W. 2018.

### 3.8.4.2 Absorbancia de la Actividad Antioxidante

Para la evaluación de la actividad antioxidante de los compuestos fenólicos de cada muestra se reemplaza los 20  $\mu$ L de la solución de Trolox por el extracto de cada tratamiento.

La absorbancia fue leída a los 6min de haber incorporado los 20  $\mu$ L de extracto. Utilizando la fórmula obtenida de la curva de calibración de trolox, reemplazamos los valores de “x” (Absorbancia) y obtenemos los valores de “y” (concentración) de cada muestra y repetición.

Mediante el conteo de regresión se obtuvieron los datos finales de concentración expresado en mg TEAC/ gr muestra sólida:

### **3.8.5 Método propuesto para la Micro Encapsulación**

Para la micro encapsulación de los extractos de cáscara y pulpa de mango, se procedió con un dispositivo que tiene dos recipientes cilíndricos conectados con una válvula de compuerta de 2 pulgadas, un tampón roscable de 2 pulgadas y un reductor de 3 a 2 pulgadas.

La formación de la cápsula se realizó en el vaso superior mediante la ayuda de una jeringa con la adición gota a gota (1,8% p / v) de solución de Na-alginato que contiene compuestos fenólicos de cáscara de mango y en otra compuestos fenólicos de pulpa de mango a una mezcla de aceite vegetal 100ml y  $\text{CaCl}_2$  20ml que se mantuvo en agitación a 500 rpm con un agitador de hélice (Fisher Scientific BDC2002, Canadá).

Una vez que se añadió la solución de alginato de Na, se suspendió la agitación y se procedió a abrir la válvula situada entre los dos vasos, permitiendo que las cápsulas formadas se desplacen al recipiente inferior que contenía una solución de  $\text{CaCl}_2$  (10%) 250ml. Una vez que las cápsulas sedimentaron se dejaron reposar aproximadamente 24 horas. (Quiroz F. 2015).

Para la preparación de alginato de Na + compuestos fenólicos se tomaron 1,05 ml de compuestos fenólicos y se aforo a 10ml con agua destilada a esta solución se agregaron 0,2g de alginato y se mezcló hasta obtener una sustancia homogénea

### **3.8.6 Elaboración del Recubrimiento de Almidón de Yuca**

El recubrimiento de almidón de yuca se realizó de acuerdo con (Santacruz *et al.*, 2015) con pequeñas modificaciones. se agrega 1g de almidón por cada g de cápsula en 99ml de agua.

En el caso de la pulpa de 1,05 ml de extracto se obtuvo 5,45g de cápsula

Es decir, cada g de cápsula contiene 0,192 g de extracto. Para el recubrimiento se realizaron 2 preparaciones a las cuales se les agregó 5,45g de almidón en 539.5 ml de agua destilada se calentó 90 °C y se dejó enfriar a temperatura ambiente en la primera se agregaron los extractos con cápsula 5,45 g de cápsula, y la segunda (el recubrimiento sin cápsula) se agregaron 0.96g de extracto.

En el caso de la cáscara de 1,05 ml de extracto se obtuvo 4,52g de cápsula

Es decir, cada g de cápsula contiene 0,232 g de extracto. Para el recubrimiento se realizaron 2 preparaciones a las cuales se les agregó 4,52g de almidón en 447.4ml de agua destilada se calentó 90 °C y se dejó enfriar a temperatura ambiente en la primera se agregaron los extractos con cápsula 4,52 g de cápsula, y la segunda (el recubrimiento sin cápsula) se agregaron 1,04g de extracto.

### **3.8.7 Análisis Microbiológico**

#### **3.8.7.1 Para el Recuento de Aerobios (Aerobic Count AC) Con Placas Petrifilm™**

El tinte indicador rojo que se encuentra en la placa colorea las colonias para su mejor identificación. Cuente todas las colonias rojas sin importar su tamaño o la intensidad del tono rojo

AOAC método oficial 990.12 Incubar 48 h ± 3 h a 35 °C ± 1 °C

### **3.8.7.2 Placas Petrifilm™ para el Recuento de E. Coli**

La película superior atrapa el gas producido por E. coli y coliformes fermentadores de lactosa. Cerca del 95% de las E. coli producen gas, representado por colonias entre azules y rojo-azules asociadas con el gas atrapado en la Placa Petrifilm EC (dentro del diámetro aproximado de una colonia).

- AOAC método oficial 998.08 Para E. coli (carnes, aves, marinos): Incubar 24 h  $\pm$  2 h a 35 o C  $\pm$  1 o C.

### **3.8.7.3 Placas Petrifilm™ Para el Recuento de Coliformes**

Las colonias coliformes que crecen en la Placa Petrifilm EC, producen un ácido que causa el oscurecimiento del gel por el indicador de pH. El gas atrapado alrededor de las colonias rojas de coliformes confirma su presencia.

AOAC método oficial 991.14 Para coliformes: Incubar 24 h  $\pm$  2 h a 35 o C  $\pm$  1 o C.  
Para E. coli: Incubar 48 h  $\pm$  2 h a 35 o C  $\pm$  1

# CAPITULO IV

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1 DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS DEL MANGO

En la **tabla 8** se detalla la caracterización fisicoquímica de las diferentes partes anatómicas del mango los cuales dieron como resultados 4.94 y 4.62 para el pH en cáscara y la pulpa, los grados °Brix en pulpa fue de 15.1, el porcentaje de acidez fue de 0,064 para la cáscara y 0,313 en la pulpa.

**Tabla 8:** Propiedades fisicoquímicas de la cáscara y pulpa de mango.

<b>Determinación de las propiedades fisicoquímicas del mango</b>				
Parte Anatómica	pH	°Brix	% Acidez	Estado de madurez
CÁSCARA	4,94	-	0,064	-
PULPA	4,62	15,1	0,313	48,42

**Fuente:** Acuña, L. 2018.

### 4.2 CUANTIFICACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS TOTALES DE CÁSCARA Y PULPA DE MAGO

Los resultados obtenidos mediante los métodos espectrofotométrico de la interacción de las variables dependientes e independientes fueron sometidos a análisis estadísticos de varianza para comprobar si existe diferencia significativa mediante la prueba de Tukey con un margen de error del 0.05% la misma que se detalla en la **figura 3**, donde estadísticamente nos muestra que no existe diferencia significativa entre sí, pero si existe diferencia matemática siendo la cáscara la que mayor concentración de compuestos fenólicos con 135.54 mg GAE/g y la pulpa 78.82 mg GAE/g.

**Figura 3:** Análisis de varianza de los compuestos fenólicos obtenidos de la cáscara y de la pulpa de mango

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=104,20700			
Error: 2113,0176 gl: 4			
PARTE ANATOMICA	Medias	n	E.E.
PULPA	78,82	3	26,54 A
CASCARA	135,54	3	26,54 A

**Fuente:** Acuña, L. 2018.

En los datos finales de concentración mediante el conteo de regresión de compuestos fenólicos de cáscara y pulpa de mango se obtuvieron los siguientes valores 135 mg/g para la cáscara y 78 mg/g para la pulpa estos resultados difieren con los estudios realizados por Hana Kim et al. (2010) sobre las actividades antioxidantes y antiproliferativas del mango (*Mangifera indica L.*) en pulpa y cáscara donde el contenido polifenólico total fue de 70.1 y 26.9 mg GAE/ respectivamente, proporcionalmente hablando, este estudio indicó que la cáscara de mango contenía más polifenoles y flavonoides que la pulpa, y exhibieron buena actividad antioxidante, información que se confirma en la presente investigación.

Aunque proporcionalmente hablando, el contenido de compuestos fenólicos de la cáscara es mayor que el de la pulpa para ambos, la variación se puede deber a que la determinación del contenido total de fenoles se realizó con el método folin-Ciocalteau, el cual no es recomendable utilizar en frutas con alto contenido de ácido ascórbico como el mango, porque éste último contribuye a reducir los azúcares, las proteínas solubles y otras sustancias que pueden sobre-estimar el contenido de fenoles totales en el mango. Corrales et al (2014).

#### 4.3 ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

En la **figura 4 y figura 5** se detalla el análisis de varianza de la actividad antioxidante de la cáscara y pulpa de mango, donde estadísticamente nos muestra que, si existe diferencia significativa entre la pulpa y la cáscara del, mango dando un valor de 17,63  $\mu\text{M TEAC / gr m.s}$  y 168,21  $\mu\text{M TEAC / gr m.s}$  respectivamente (**Fig. 4**). Lo que expresado en  $\text{mmol/100g}$  (**Fig. 5**) sería 1,76 en pulpa y 16,79 en cáscara

**Figura 4:** Análisis de varianza de la actividad antioxidante de la cáscara y de la pulpa de mango expresadas en  $\mu\text{M TEAC / gr m.s}$ .

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=46,42205				
Error: 419,3319 gl: 4				
PARTE ANATOMICA	Medias	n	E.E.	
PULPA	17,63	3	11,82	A
CASCARA	168,21	3	11,82	B

**Fuente:** Acuña, L. 2018.

**Figura 5:** Análisis de varianza de la actividad antioxidante de la cáscara y de la pulpa de mango expresadas en  $\text{mmol./100g}$ .

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=4,60643				
Error: 4,1289 gl: 4				
Parte anatomica	Medias	n	E.E.	
PULPA	1,76	3	1,17	A
CASCARA	16,69	3	1,17	B

**Fuente:** Acuña, L. 2018.

Torunn et al. (2009) realizó un estudio sobre la Actividad Antioxidante de frutas y verduras de Uganda de las cuales analizó la pulpa del mango obteniendo un resultado de  $1.62 \text{ mmol/ } 100\text{g}$ , mientras que Vintimilla Gualán, MG (2013) en su estudio sobre actividades antioxidantes de sub-productos agroindustriales del mango determinó que la actividad antioxidante de la cáscara de mango es de  $167.26 \mu\text{mol TEAC/g ms}$ , resultados que concuerdan con los obtenidos en este estudio los cuales fueron  $17,63 \mu\text{M TEAC / gr m.s}$  para la pulpa y  $168,21 \mu\text{M TEAC / gr m.s}$  para la cáscara corroborando que la cáscara es la que presenta una mayor actividad antioxidante debido a las acciones sinérgicas de compuestos bioactivos presentes en ella. Hana Kim et al. (2010).

#### 4.4 ANALISIS MICROBIOLÓGICOS EN FILETES DE PESCADO RECUBIERTOS

##### E. Coli

Los análisis microbiológicos realizados a los filetes de pescado en cuanto a E. Coli muestran que en el día 0 no hubo presencia de este microorganismo en los tratamientos cáscara con cápsula, cáscara sin cápsula y pulpa sin cáscara mientras que para los tratamientos pulpa con cápsula y control fue de 10 ufc/g.

En el día 1 el crecimiento se mantuvo igual que el día cero, en los tratamientos cascara sin cápsula y pulpa sin cápsula mientras que en los demás tratamientos los valores fueron muy numerosos para contar (MNPC), en los días dos y tres los resultados para todos los tratamientos fueron muy numerosos para contar.

**Tabla 9.** Análisis microbiológicos de E. Coli (ufc/g) en tratamientos CCC (cáscara con cápsula), CSC (áscara sin ápsula), PCC (pulpa con cápsula), PSC (pulpa sin cápsula) y tratamiento Control

E. COLI					
DIA	CCC	CSC	PCC	PSC	CONTROL
DIA 0	0	0	10	0	10
DIA 1	MNPC	0	MNPC	0	MNPC
DIA 2	MNPC	MNPC	MNPC	MNPC	MNPC
DIA 3	MNPC	MNPC	MNPC	MNPC	MNPC

**Fuente:** Acuña, L. 2018

Las bacterias E.coli verotoxigénicas pueden transmitirse al hombre a través de los alimentos por varias vías como por ejemplo en proceso por falta de higiene e inadecuada manipulación de los alimentos:

- Contaminación cruzada en los mataderos y en las fases posteriores de transformación de los alimentos, y en la preparación y cocinado de los alimentos en el hogar.
- Personas: Los manipuladores de alimentos pueden ser portadoras de E.coli, de forma que al manipular los alimentos, sin tener en cuenta unas buenas prácticas de higiene, contaminan los alimentos (ELIKA. 2013).

Los requisitos microbiológicos de la norma técnica ecuatoriana NTE INEN 183:2013 para pescado fresco refrigerado o congelado el índice máximo permisible para identificar nivel de buena calidad para E. coli es de 10 ufc/g y índice máximo permisible para identificar nivel aceptable de calidad es de 500 ufc/g. Los tratamientos durante el día 0 cumplen con los requisitos de esta norma mientras que durante los días siguientes los valores resultan muy numerosos para contar a excepción de los tratamientos: cáscara sin cápsula y pulpa sin cápsula que en el día 1 se encuentran dentro de parámetros.

#### 4.4.2 Coliforme

La **tabla 10** se muestran los resultados de coliformes realizados a filetes de pescado recubierto con almidón de yuca al 1 % y encapsulados y sin encapsular con compuestos fenólicos, donde el día 0 el crecimiento de coliformes para el tratamiento cáscara con cápsula fue de 926 ufc/g, para cáscara sin cápsula fue de 10 ufc/g, para la pulpa con cápsula 140 ufc/g, 20 ufc/g en pulpa sin cápsula y muy numeroso para contar en el tratamiento control, en el día 1 los valores fueron de 50 ufc/g para el tratamiento cáscara sin cápsula y 127 ufc/g para pulpa sin cápsula el resto de tratamientos se evidenciaron valores muy numerosos, para los días 2 y 3 todos los tratamientos fueron incontables.

**Tabla 10.** Análisis microbiológicos de Coliforme (ufc/g) en tratamientos CCC (cáscara con cápsula), CSC (cáscara sin cápsula), PCC (pulpa con cápsula), PSC (pulpa sin cápsula) y tratamiento Control.

COLFORME					
DIA	CCC	CSC	PCC	PSC	CONTROL
DIA 0	926	10	140	20	MNPC
DIA 1	MNPC	50	MNPC	127	MNPC
DIA 2	MNPC	MNPC	MNPC	MNPC	MNPC
DIA 3	MNPC	MNPC	MNPC	MNPC	MNPC

**Fuente:** Acuña, L. 2018.

La presencia de bacterias coliformes es un indicio de que el agua puede estar contaminada con aguas negras u otro tipo de desechos en descomposición. Generalmente, las bacterias coliformes se encuentran en mayor abundancia en la capa superficial del agua o en los sedimentos del fondo (Munn, 2004).

Los resultados de los análisis microbiológicos para coliformes en filetes nos indica que únicamente el tratamiento cáscara sin capsula se encuentra dentro de parámetros según la Norma Oficial Mexicana NOM-093-SSA1-1994, Bienes y Servicios, prácticas de higiene y sanidad en la preparación de alimentos que se ofrecen en establecimientos fijos, la cual define que lo requisitos microbiológicos para carnes de mamíferos, aves, pescados, mariscos, crustáceos, moluscos bivalvos, etc. para coliformes totales es de < 10 UFC/g. Mientras que el resto de tratamientos no cumplen con esta especificación, se puede apreciar que seguido de la cáscara sin cápsula la pulpa sin ápsula posee menor crecimiento de coliformes en relación a los otros tratamientos.

#### 4.4.3 Contaje Total o Mesófilo

En la **tabla 11** se muestran los resultados microbiológicos para contaje total en filetes los cuales fueron muy numerosos para contar en todos los tratamientos durante todos los días de análisis a excepción del tratamiento cáscara sin cápsula que en el día 0 se evidenció con 300 ufc/g.

**Tabla 11.** Análisis microbiológicos de Mesofilos (ufc/g) en tratamientos CCC (cáscara con cápsula), CSC (cáscara sin cápsula), PCC (pulpa con cápsula), PSC (pulpa sin cápsula) y tratamiento Control.

MESOFILOS					
DIA	CCC	CSC	PCC	PSC	CONTROL
DIA 0	MNPC	300	MNPC	MNPC	MNPC
DIA 1	MNPC	MNPC	MNPC	MNPC	MNPC
DIA 2	MNPC	MNPC	MNPC	MNPC	MNPC
DIA 3	MNPC	MNPC	MNPC	MNPC	MNPC

**Fuente:** Acuña, L. 2018.

Los recuentos altos de mesófilos en alimentos estables a menudo indican materias primas contaminadas o tratamientos no satisfactorios desde el punto de vista sanitario.

En los productos perecederos pueden indicar también condiciones inadecuadas de tiempo/temperatura durante su almacenamiento (Ecured. 2018). Esto puede por consiguiente ser riesgo para la salud del consumidor, pudiendo causar brotes de origen alimentario, lo que puede representar un grave problema de salud pública

Según la norma técnica ecuatoriana NTE INEN 183:2013 para pescado fresco refrigerado o congelado el índice máximo permisible para identificar nivel de buena calidad para microorganismos mesófilos es de  $5 \times 10^5$  ufc/g. una vez comparado cada uno de los resultados de los diferentes tratamientos se evidenció que ninguno cumple con los requisitos indicados por la norma, excepto el tratamiento que tenía los compuestos fenólicos de la cáscara sin encapsular, el cual fue el único que en el primer día cumplió con este parámetro, sin embargo para los días siguientes ninguna de las muestras cumplían con este parámetro.

## CAPITULO V

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 5.1 CONCLUSIONES

A lo largo de la presente investigación sobre el Efecto De Compuestos Fenólicos De Cascara Y Pulpa De Mango (*Mangifera Índica*) En La Conservación De Filetes De Pescado Albacora se pudo concluir que:

- La cantidad total de compuestos fenólicos para la cáscara de mango (*Mangifera indica L.*) fue de 135.54 mg GAE/g esto es 56.72 mg GAE/g más que la pulpa, ya que esta tuvo una cantidad total polifenoles de 78.82 mg GAE/g, lo que, proporcionalmente hablando, significaría el 41.86% de compuestos fenólicos totales para la pulpa lo cual indica que la cascara obtuvo un 58.13% más de compuestos fenólicos que la pulpa.
- La actividad antioxidante de compuestos fenólicos de cáscara de mango fue mucho mayor a los de la pulpa ya que se obtuvieron valores de 168,21 y 17,63  $\mu\text{M}$  TEAC / gr m.s. respectivamente, lo cual indica que la actividad antioxidante está directamente relacionada con la cantidad total de compuestos fenólicos
- En cuanto al efecto de los compuestos fenólicos del mango (pulpa y cáscara) en el crecimiento microbiano de pescado albacora, el tratamiento cáscara sin cápsula tuvo una acción antimicrobiana mayor que los demás tratamientos inclusive siendo éste el único tratamiento que cumple con los requisitos microbiológicos de las normas NTE INEN 183:2013 y Norma Oficial Mexicana NOM-093-SSA1, cabe recalcar que este cumplimiento al requisito solo se dió durante el día cero mientras que para los siguientes días y en absolutamente todos los tratamientos se evidenciaron valores incontables.

- El tratamiento con menor efectividad fue el tratamiento pulpa con cápsula que, a pesar de que redujo la carga microbiana en relación con la prueba control, no tuvo un alto poder antimicrobiano, posiblemente debido a que la pulpa contiene menor actividad antioxidante que la cáscara y esta se encontraba recubierta por cápsulas lo cual pudo provocar que la capacidad antioxidante pierda su efecto.

## **5.2 RECOMENDACIONES**

- Se recomienda para futuras investigaciones realizar la extracción de compuestos fenólicos con otras sustancias para comprobar que la acción antimicrobiana de estos compuestos es igual de efectiva que en la extracción etanólica.
- Se recomienda además que los análisis microbiológicos se realicen en diluciones de por lo menos  $1 \times 10^{-3}$  para obtener una mayor exactitud en los resultados ya que la carga microbiana aumentó considerablemente a partir del día 1 posiblemente porque los filetes se mantuvieron en condiciones similares a las de los vendedores informales, provocando un elevado desarrollo de microorganismos.
- Hacer comparaciones de las mismas muestras con otro laboratorio utilizando otros métodos para verificar la veracidad de los resultados obtenidos en la investigación y con ello disipar cualquier duda.

## BIBLIOGRAFÍA

- Abraham, WM. Olivas Aguirre, FJ. Velderrain-Rodríguez, G. González-Aguilar, A. A de la Rosa, A. López-Díaz, JA y Álvarez Parrilla, E. 2014. El mango: aspectos agroindustriales, valor nutricional/funcional y efectos en la salud(en línea) . Nutr Hosp. 2015;31(1):67-75 ISSN 0212-1611 CODEN NUHOEQ S.V.R. 318. Consultado el 07 de jul de 2018. Disponible en: <http://www.aulamedica.es/nh/pdf/7701.pdf>
- Arias C, Blanco N, Rodríguez A, Tardón A, Cueto A. Condiciones higiénico-sanitarias de comedores escolares del municipio de Oviedo. Rev Esp Salud Pública 1998; 72: 571-81.
- AOAC. 1990. Methods of Analysis of Analytical Chemistry. Ed.For Hortwiz. Washington, DC. USA.
- Avello, M ; Suwalsky, M. 2006. Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. Atenea 2(2006): 161-172
- Aubourg, S; Vinagre, J; Rodríguez, A; Losada, V; Larraín M<sup>a</sup> A., Quitral V; Gómez, J; Maier, L., and Wittig E. 2005. Rancidity development during the chilled storage of farmed Coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*), Eur. J. Lipid Sci. Technol 107: 411-417.
- Balasundram, N.; Sundram, K.; Samman, S. 2006. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. Food Chem 99, 191–203.
- Benites, J. et al.2011. Actividad antioxidante y antibacteriana de seis cáscaras de frutos del oasis de Pica (en línea). Consultado el 05 nov. 2017. Disponible en: <http://www.revistasbolivianas.org.bo/pdf/rbfb/v19n1/a01.pdf>
- Barbosa-Cánovas, G. y Bermúdez-Aguirre, D. 2010. Procesamiento no térmico de alimentos, Scientia Agropecuaria, 1(1), 81-93p.
- Berardini et al. 2005. Screening of mango (*Mangifera indica*L.) cultivars of their contents of flavol Oand xanthone C-glycosides, anthocyanins and pectin.Journal of Agricultural and Food Chemistry 53: 1563–1570
- Berra et al. 2005. Phenolic compounds in plants and and agroidustrial by-products: antioxidant properties of minor polar components of olive oil on the oxidative processes of colesterol in human LDL. Rivista italiana Sost Grase 72: 285-291.
- Borgogna, M. et al. 2010. Food microencapsulation of bioactive compounds: rheological and thermal characterisation of non-conventional gelling system. Food Chemistry. 122(2):416-423.
- Boufleur, LA. 2013. Elemental characterization of Brazilian canned tuna fish using particle induced X-ray emission (PIXE), Journal of Food Composition and Analysis, 30(1), 19-25p.
- Champagne, C.P.; Blahuta, N.; Brion, F. and Gagnon, C. 2000. A vortex-bowl disk atomizer system for the production of alginate beads in a 1500-liter fermentor. Biotechnology and Bioengineering. 68(6):681-688.
- Chan, Eng Seng; Lee, Boon Beng; Ravindra, Pogaku and Poncelet, Denis. 2009. Prediction models for shape and size of ca-alginate macrobeads produced through extrusion-dripping method.Journal of Colloid and Interface Science. 338(1):63-72.

- Charles J. Krebs. 2008. ATÚN DE ALETA AMARILLA. University of California Press disponible en: <http://www.bioenciclopedia.com/atun-de-aleta-amarilla/>
- Chiumarelli, M.; Ferrari, C.C.; Sarantópoulos, C.; Hubinger, M.D. 2011. Fresh cut 'Tommy Atkins' mango pre-treated with citric acid and coated with cassava (*Manihot esculenta* Crantz) starch or sodium alginate. *Innov. Food Sci. Emerging Technol.* 12:381-387.
- CIAT, 2007. Condición del Atún Aleta Amarilla (*Thunnus albacares*) en el Océano Pacífico Oriental en el 2006 y perspectivas. Comisión Interamericana del Atún Tropical. Evaluación de Poblaciones de Peces. La Jolla, California.
- Clifford, MN. 1992. Sensory and dietary properties of phenols. *Proceeding of the 16th international conference of grape polyphenol* 16: 18-23.
- (CSENC) Consenso de la Sociedad Española de Nutrición Comunitaria, 2011. Bonito (en línea). Consultado 15 nov. 2017. Disponible en: [http://www.mapama.gob.es/es/ministerio/servicios/informacion/bonito\\_tcm7-315693.pdf](http://www.mapama.gob.es/es/ministerio/servicios/informacion/bonito_tcm7-315693.pdf)
- Corrales-Bernal, A. Maldonado, ME. Urango, LA. Franco, MA. Rojano, BA. 2014. Mango de azúcar (*Mangifera indica*), variedad de Colombia: características antioxidantes, nutricionales y sensoriales (en línea). *Rev Chil Nutr* Vol. 41, N°3. Consultado el 17 jul 2018. Disponible en: <http://www.redalyc.org/html/469/46932089013/>
- Corrales et al. 2014. Efectos in vitro e in vivo de la pulpa de mango (*Mangifera indica* cv. *Azúcar*) en la carcinogénesis de colon (en línea). Consultado 03 noviembre 2017. Disponible [http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0004-06222014000100003](http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222014000100003)
- Cruz, J. M; Moldes, A; Bustos, G; Torrado, A; and Domínguez, J. 2007. Integral utilisation of barley husk for the production of food additives. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87, 1000–1008.
- Daza Luis Daniel, Herrera Andrea Veronica, Murillo Elizabeth, Mendez Jonh Jairo. 2014. Evaluación De Propiedades Antioxidantes De Parte Comestible Y No Comestible De Pitahaya, Uchuva Y Mangostino. *Biología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial* Vol 12 No. 1 (98-105).
- Dohnal, Jiří and Štěpánek, František. 2010. Inkjet fabrication and characterization of calcium alginate microcapsules. *Powder Technology*. 200(3):254-259.
- Ecured. 2018. Bacterias mesofilas (en línea). Consultado el 07 de jul de 2018. Disponible en: [https://www.ecured.cu/Bacterias\\_mes%C3%B3filas](https://www.ecured.cu/Bacterias_mes%C3%B3filas)
- El Diario. 2010. Pesca de bonito atún es abundante en mercados (en línea). Consultado el 05 nov. 2017. Disponible en: <http://www.eldiario.ec/noticias-manabi-ecuador/266898-pesca-de-bonito-atun-es-abundante-en-mercados/>
- El Diario. 2011. Manabismo: Manabí concentra el 80% de la pesca (en línea). Consultado el 10 nov. 2017. Disponible en: <http://www.eldiario.ec/noticias-manabi-ecuador/195173-manabi-concentra-el-80-de-la-pesca/>
- El Diario. 2016. El mango es la fruta apetecida del momento (en línea). Consultado el 26 de sep. 2018. Disponible en: <http://www.eldiario.ec/noticias-manabi-ecuador/409640-el-mango-es-la-fruta-apetecida-del-momento/>

- ELIKA (Fundación Vasca para la Seguridad Alimentaria). 2013. Escherichia Coli. Consultado el 27 sep. 2018. Disponible en: [http://www.elika.net/datos/pdfs\\_agrupados/Documento84/3.Ecoli.pdf](http://www.elika.net/datos/pdfs_agrupados/Documento84/3.Ecoli.pdf)
- Espinoza, A. y Santacruz, S. 2013. Comparación de los contenidos de compuestos fenólicos totales y taninos. Tesis Ing. Alimentos. Quito - Ecuador, USFQ.44p.
- Fast Secret. 2015. Base de datos del alimento y contador de calorías, Atún Aleta Amarilla. consultado 27/09/2018, de Fast Secret Mexico. Sitio disponible en: <http://www.fatsecret.com.mx/calor%C3%ADAsnutrici%C3%B3n/gen%C3%A9rico/at%C3%BAAn-aleta-amarilla>
- Fischer, WF. Krupp, W. Shneider, C. Sommer, K. Carpenter, E. y Niem., 1995. Guía FAO para la identificación de especies para los fines de la pesca. Pacífico centro-oriental. Volumen III: Vertebrados- parte 2. FAO. III. 1201- 1813pp.
- Funami, T. et al. 2009. Rheological properties of sodium alginate in an aqueous system during gelation in relation to supermolecular structures and Ca<sup>2+</sup> binding. *Food Hydrocolloids*. 23(7):1746-1756.
- Garay Ja, Marín B, Ramírez G, Betancourt J, Troncoso W, Gómez ML, et al. 2002. Diagnóstico y evaluación de la calidad ambiental marina en el Caribe y Pacífico colombiano. Red de vigilancia para la protección y conservación de la calidad de las aguas marinas y costeras. Diagnóstico 2002. INVEMAR;
- Garazo, A. 2016. Taller Comercialización y Trazabilidad Comercialización en primera venta (en línea). Santiago de Compostela. Consultado el 26 de sep. 2018. Disponible en: <http://www.quadralia.com/wp-content/uploads/2016/12/Taller-Comercializaci%C3%B3n-pesca-artesanal-r3.pdf>
- Gómez García, R., Martínez Ávila, GC., Rodríguez Herrera, R., y Aguilar C. 2012. Fuentes y beneficios de los antioxidantes fenólicos (en línea). Departamento de Investigación en Alimentos. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Autónoma de Coahuila. Consultado el 05 de jul 2018. Disponible en: <http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:http://www.posgradoeinvestigacion.uadec.mx/CienciaCierta/CC31/5.html>
- Gonzales, C. et al. 2012. Micro encapsulación con alginato en alimentos. Técnicas y aplicaciones (en línea). Consultado 04 noviembre 2017. Disponible: <https://sites.google.com/site/1rvcta/v3-n1-2012/h8>
- Gorinstein, S., Martin-Belloso, O., Parkys, Y.S., Haruenkit, R., Lojek, A., Ciz, M., Capi, A., Libman, I., Trakhtenberg, S. 2001. Comparison of some bio-chemical characteristics of different citrus fruits. *Food Chemistry*. 74: 309-15.
- Hana Kim a, Jeong Yong Moon a, Hyeonji Kim a, Dong-Sun Lee a, Moonjae Cho, Hyung-Kyoon Choi c, Young Suk Kim d, Ashik Mosaddik a,f, Somi Kim Cho. 2010. Antioxidant and antiproliferative activities of mango (*Mangifera indica* L.) flesh and peel. *Food Chemistry* 121 (2010) 429–436.
- Halliwell, Bary. 1996. "Antioxidant characterization and natural antioxidant": Food quality protectors. *Grasas y Aceites*, 47, 186-196.

- Helgerud, Trond; Gåserød, Olav; Fjæreide, Therese; Andersen, Peder O. and Larsen, Christian K. 2010. Alginates. In Food stabilizers, thickeners and gelling agents. (pp. 50-72). United Kingdom: Wiley-Blackwell.
- Huss, HH. 1998. El pescado fresco: su calidad y cambios de calidad. Roma: FAO documento técnico de pesca 348.
- Icontec. 2002. NTC-5139 para frutas frescas, mangos criollos y especificaciones. Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Especificaciones, Bogotá
- Jump, D.B., C.M. Depner y S. Tripathy, 2012. Omega-3 fatty acid supplementation and cardiovascular disease Thematic Review Series: New lipid and lipoprotein targets for the treatment of cardiometabolic diseases, Journal of lipid research, 53(12), 2525-2545p.
- KIM, Y. et al. Antioxidant phytochemical and fruit quality changes in mango following hot water immersion and controlled atmosphere storage. En: Food Chemistry. Vol. 105, No. 4 (2007); p. 1327-1334.
- Kisner, M. 2010. Comercialización Y Distribución De Productos Hidrobiológicos: Seguridad Alimentaria (en línea). Consultado el 02 nov. 2017. Disponible en: <http://pescasostenible.blogspot.com/2010/07/comercializacion-y-distribucion-de.html>
- Khoddami, A.; Wilkes, M.; Roberts, T.H. 2013. Techniques for analysis of plant phenolic compounds. Molecules 18, 2328–2375.
- Leos-Rivas, C., Rivas-Morales, C., & García-Hernández, D. (2016). Actividad antioxidante y toxicidad (en línea). En Rivas-Morales, C., Oranday-Cardenas, M.A., & Verde-Star, M.J. (Eds.). Investigación en plantas de importancia médica. Barcelona, España: OmniaScience. 41-76. Consultado el 22 de may 2018. Disponible en: <http://www.omniascience.com/monographs/index.php/monograficos/article/viewFile/333/237>
- Lexicoon. 2009. Significado, etimología y definición de la palabra atún.. 30/08/2015, de Lexicoon. Sitio web: <http://lexicoon.org/es/atun>
- Lexicoo.2017. Diccionario: Qué Significa Cáscara En Español (en línea). Consultado el 10 nov. 2017. Disponible en: <http://lexicoon.org/es/cascara>
- Llancari, A. y Matos, A. 2011. Valoración de los nutrientes y antioxidantes en la salud humana e industria alimentaria (2-4). En: Universidad Peruana Unión. I Congreso Nacional de Investigación. Perú, Lima,
- BCA (Banco Central del Ecuador. 2008. Mango: ficha técnica (en línea). Consultado 01 nov 2017. Disponible [http://web.archive.org/web/20081012073314/http://www.proexant.org.ec:80/HT\\_Mango.html](http://web.archive.org/web/20081012073314/http://www.proexant.org.ec:80/HT_Mango.html)
- Mantuano, W. 2018. Efecto Del Procesamiento De Chocolate Negro En El Contenido Y Actividad Antioxidante De Compuestos Fenólicos. Tesis Ing. Agroindustrial. Manta, Manabí, ULEAM. 63p.
- Marcano J., L. Marcano y X. Gutiérrez. 1993. Informe programa Atún año 1992. MAC - Fonaiap. 11 pp.
- Marín B, Garay J, Ramírez G, Betancourt J, Troncoso W, Gómez ML, et al. 2005. Diagnóstico y evaluación de la calidad ambiental marina en el Caribe y Pacífico

colombiano red de vigilancia para la conservación y protección de las aguas marinas y costeras de Colombia. Diagnóstico Nacional y Regional 2005. Invemar;.

- Martín-Villena, M.J.; Morales-Hernández, M.E.; Gallardo-Lara, V. y Ruíz-Martínez, M.S. 2009. Técnicas de microencapsulación: una propuesta para microencapsular probióticos. *ARS Pharmaceutica*. 50(1):43-50.
- Martínez, BL y Romero, MS. 2015. Evaluación de la calidad microbiológica de pescado crudo comercializado en el muelle del puerto de la libertad. Tesis Lic. Química. Universidad De El Salvador, San Salvador. 223p. consultado en línea el 27 de jul 2018. Disponible en: <http://ri.ues.edu.sv/9326/1/16103647.pdf>
- Martínez, I. Periago, M. Gaspar, R. 2000. Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. *Archivos latinoamericanos de nutrición*. 50(2000): 5-18
- Martínez et al. 2000. Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. *Archivos latinoamericanos de nutrición* 50: 647-659.
- Martínez, HA. 2013. La cáscara del mango esconde grandes propiedades antioxidantes (en línea). Consultado el 05 nov. 2017. Disponible en: [http://caracol.com.co/radio/2013/10/08/entretenimiento/1381243140\\_990972.html](http://caracol.com.co/radio/2013/10/08/entretenimiento/1381243140_990972.html)
- Minor, PH. 1998. Cambios en parámetros fisicoquímicos relacionados con la calidad de la carne de cerdo sometida a fermentación láctica como método de bioconservación. Tesis de maestría, UAM Iztapalapa.
- Mofidi, N.; Aghai-Moghadam, M. and Sarbolouki, M.N. 2000. Mass preparation and characterization of alginate microspheres. *Process Biochemistry*. 35(9):885-888.
- Mora, J et al. 2002. Guía para el cultivo del mango (en línea). Consultado 05 nov. 2017. Disponible en: [http://www.mag.go.cr/biblioteca\\_virtual\\_ciencia/tec-mango.pdf](http://www.mag.go.cr/biblioteca_virtual_ciencia/tec-mango.pdf)
- Mossel DAA et al. 2003. *Microbiología de los Alimentos*. 2ª ed. Acribia, Zaragoza, p 518, 620,
- Munn Cb. 2004. *Marine Microbiology: Ecology And Applications*. New York: Bios Scientific Publisher;
- Munin, A y Edwards-LÉvy, F.2011. Encapsulation of Natural Polyphenolic Compounds: A Review. *Pharm*. 3 (4): 793-829.
- Naczki, M y Shahidi, F. 2006. Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 41: 1523–1542
- Nazzaro, F., F. Fratianni, R. Coppola, A. Sada and P. Orlando. 2009. Fermentative ability of alginate-prebiotic encapsulated *Lactobacillus acidophilus* and survival under simulated gastrointestinal conditions. *Journal of Functional Foods* 1(3): 319-323.
- NEVEU, V.; PEREZ-JIMÉNEZ, J.; VOS, F.; CRESPI, V.; DU CHAFFAUT, L.; MENNEN, L.; KNOX, C.; EISNER, R.; CRUZ, J.; WISHART, D.; SCALBERT, A. 2010. Phenol-Explorer: an online comprehensive database on polyphenol contents in foods. *Database (Oxford)* 2010, 24.
- Norma Oficial Mexicana Nom-093-Ssa1. 1994. Bienes Y Servicios. Prácticas De Higiene Y Sanidad En La Preparación De Alimentos Que Se Ofrecen En Establecimientos Fijos. Consultado el 06 de jul de 2018. Disponible en: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/093ssa14.html>

- OPS-OMS. 1996. Guía para el establecimiento de sistemas de vigilancia epidemiológica de enfermedades transmitidas por alimentos (VETA) y la investigación de brotes de toxi-infecciones alimentarias;
- Ospina, SM et al. 2012. Estudio Experimental Del Proceso De Fermentación De Residuos Agroindustriales Del Mango (*Mangifera Indica L*) Usando *Saccharomyces Cerevisiae*. Tesis bacter. Manizales. Universidad Católica De Manizales. 26 p.
- Ortega et al. 2015. Efecto de la temperatura y concentración sobre las propiedades reológicas de la pulpa de mango variedad Tommy Atkins (en línea). Consultado 06 noviembre 2017. Disponible en [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_abstract&pid=S0120-100X2015000200008&lng=es&nrm=iso](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0120-100X2015000200008&lng=es&nrm=iso)
- Parize A., T. Rozzone, I. Costa, V. Fávere, M. Laranjeira, A. Spinelli and E. Longo. 2008. Microencapsulation of the natural urucum pigment with chitosan by spray drying in different solvents. *African Journal of Biotechnology* 7(17): 3107-3114.
- Parrilla M, Vásquez J, Saldate O, Nava-Fernández L. 1993. Brotes de toxiinfecciones alimentarias de origen microbiano y parasitario. *Salud Pública*; 35(5): 456-463
- Pokorny, J., Yanishlieva, N., Gordon, M. (2004). *Antioxidantes de los Alimentos*. Editorial Acribia Zaragoza. 364.
- Pal, Kunal; Paulson, Allan T. and Rousseau, Dérick. 2009. Biopolymers in controlled-release delivery systems. In *Modern biopolymer science. Bridging the divide between fundamental treatise and industrial application*. (pp. 519-557). London-Burlington-San Diego: Academic Press.
- Parra-Huertas, Ricardo Adolfo. 2010. Revisión: microencapsulación de alimentos. *Revista Facultad Nacional de Agronomía, Medellín*. 63(2):5669-5684.
- Pastene, E. 2009. Estado actual de la búsqueda de plantas con actividad antioxidante. *Boletín Latinoam Caribe Plantas Med Aromáticas* 8 (6), pp. 449- 55.
- Plazos Palmeiro, M. 2005. Inhibición de la oxidación lipídica en el músculo de pescado mediante la utilización de polifenoles obtenidos a partir del bagazo de uva. (en línea), tesis doctoral. Universidad De Santiago De Compostela. Consultado el 05 nov. 2017. Disponible en: [http://digital.csic.es/bitstream/10261/89551/1/Tesis\\_Pazos\\_Manuel.pdf](http://digital.csic.es/bitstream/10261/89551/1/Tesis_Pazos_Manuel.pdf)
- PÉREZ, B.; BRINGAS, E.; MERCADO, J.N.; SAUCEDO, C.; CRUZ, L.; BÁEZ, R. 2004. Aplicación de cera comestible en mango. Parte II: estudios fisiológicos asociados a la maduración del fruto durante el almacenamiento comercial. *Rev. Iberoam. Tec. Postcosecha*. 6(1):24-33.
- Pierson, J.; Monteith, G.R.; Roberts-Thomson, S.J.; Dietzgen, R.G.; Gidley, M.J.; Shaw, P.N. 2014. Phytochemical Extraction, Characterisation And comparative distribution across four mango (*Mangifera indica L.*) fruit varieties. *Food Chem*. 149:253-263.
- Poncelet, D. 2001. Production of alginate beads by emulsification/internal gelation. In *Bioartificial organs III: tissue sourcing immunoisolation and clinical trials*. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 944:74-82.
- Pott et al. 2003. Quantitative determination of b-carotene stereoisomers in fresh, dried, and solar-dried mangoes (*Mangifera indica L.*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51: 4527–4531

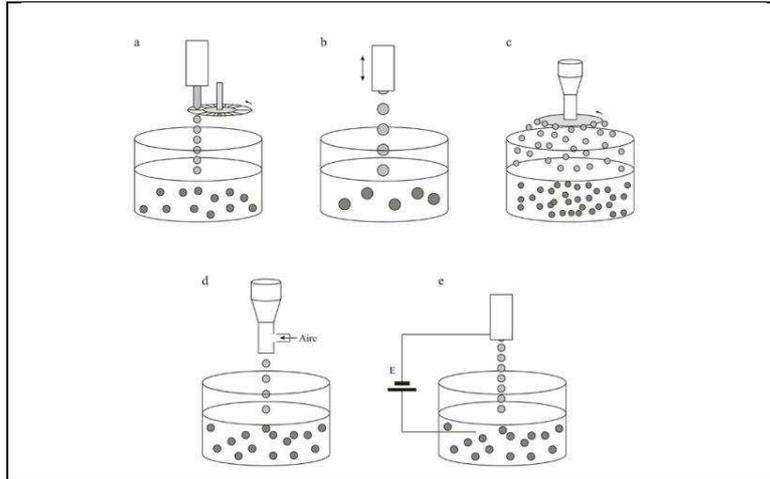
- Quintero, V. Giraldo, G. Lucas, J. Vasco, J. 2013. Caracterización Físicoquímica Del Mango Común (*Mangifera Indica L.*) Durante Su Proceso de maduración (en línea). *Biología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial* Vol 11 No. 1 (10 - 18). Consultado el 22 de julio 2018. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/bsaa/v11n1/v11n1a02.pdf>
- Quiroz F. 2015. Uso De Bacterias Lácticas (*Lactobacillus acidophilus*) Microencapsulados Con Alginato De Sodio Microencapsulados, Incorporados A Un Recubrimiento Aplicados En Queso. Tesis De Grado Previo A La Obtención De Título Ing. Agroindustrial Universidad Laica Eloy Alfaro (ULEAM), Manabí- Ecuador.
- Ribeiro S, Schieber A. 2010. Bioactive Compounds in Mango (*Mangifera indica L.*), in *Bioactive Foods in Promoting Health*, P.V. Watson R, Editor. 2010, Academic Press: California. p. 507-23.
- Ríos M, Novoa M. 1999. Apoyo del Departamento de Microbiología de Alimentos del Instituto Nacional de Higiene Rafael Rangel a la investigación de las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA). *Rev. Inst. Nac. Hig. Rafael Rangel*;30:8-13.
- Rothwell, J.A.; Perez-Jiménez, J.; Neveu, V.; Medina-Remón, A.; M'hiri, N.; García-Lobato, P.; Manach, C.; Knox, C.; Eisner, R.; Wishart, D.S.; Scalbert, A. 2013. Phenol-Explorer 3.0: A Major Update Of the Phenol-Explorer database to incorporate data on the effects of food processing on polyphenol content. *Database (Oxford)*, 70.
- Santacruz, S. Saltos Bastidas, LS. Santana Holguín, CL. 2011. Desarrollo de nuevo producto filetes de pescado dorado marinados, apanados, fritos y congelados: "Filetes de dorado fritos"(en línea). Tesis ing. En alimentos. Quito, Ecuador USFQ. 84p. consultado el 22 de abr 2018. Disponible en: <http://repositorio.usfq.edu.ec/handle/23000/707>
- Santacruz, S., Rivadeneira, C., Castro, M. (2015). Recubrimientos comestibles a base de almidón de yuca, ácido quitosán. Effect of starch source and concentration, plasticizer, surfactant's hydrophobic tail and mechanic al treatment. *Food Hydrocolloids*, 49, 89-94.
- Schieber, A.; Hilt, P.; Berardini, N.; Carle, R. 2004. Recovery of pectin and polyphenolics from apple pomace and mango peels. In: *Total Food. Exploiting coproducts – minimizing waste*, K. Waldron, C. Faulds & A. Smith Eds, 25-28 Abril, Norwich, UK. ISBN 0-7084-0644-5: 144-149.
- SIAP. 2016. Atun: *Thunnus Albacares* (en línea). Consultado el 10 de jun. 2018. Disponible en [https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/166552/atun\\_monograf\\_a.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/166552/atun_monograf_a.pdf)
- Shomura, R., Majkowski, J. & Langi, S. (eds.) 1993. Interactions of Pacific tuna fisheries. Proceedings of the first FAO Expert Consultation on Interactions of Pacific Tuna Fisheries. 3–11 December 1991. Noumea, New Caledonia. Volume 2: papers on biology and fisheries. FAO Fisheries Technical Paper. No. 336, Vol.2. Rome, FAO. 439p.
- Tonon et al. 2010. Anthocyanin stability and antioxidant activity of spray-dried açai (*Euterpe oleracea Mart.*) juice produced with different carrier agents, *Food Research International*: 43(3): 907–914.

- Torunn Stangeland, A. Siv, F. Remberg, B. Kare A y Lye, A. 2009. Total antioxidant activity in 35 Ugandan fruits and vegetables. *Food Chemistry*: 113 85–91.
- Velioglu, G. Mazza, Y.S, L. Gao y B. D. 1998. Actividad Antioxidante y Fenoles totales y frutas selectas, vegetales y productos de grano” *Journal Agric Food Chem*.
- Vintimilla Gualán, MG. 2013. Determinación de la actividad antioxidante de las fracciones lipofílicas e hidrofílicas de los subproductos agroindustriales de mango. Tesis Ingeniero En Industrias Agropecuarias. Loja – Ecuador. Universidad Técnica Particular De Loja. 118p.
- Vega Vega, V. 2011. “Enriquecimiento de la capacidad antioxidante y protección antimicrobiana del mango fresco cortado aplicando compuestos fenólicos de sus subproductos” (en línea). Tesis I.B.Q. Hermosillo, Sonora. Centro de investigación y desarrollo, A.C. 76p.
- Zamora, JD. 2007. Antioxidantes: Micronutrientes En Lucha Por La Salud (en línea). *Rev Chil Nutr* Vol. 34, N°1. Consultado el 22 jul 2018. Disponible en: [https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0717-75182007000100002](https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-75182007000100002)
- Zhen, W y Wang, SY. 2001. Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. *Agricultural and food chemistry* 49: 5165- 5170.
- Zuidam, Nicolaas Jan and Shimoni, Eyal. 2010. Overview of microencapsulates for use in food products or processes and methods to make them. In *Encapsulation technologies for active food ingredients and food processing*. (pp. 3-29). New York, NY, USA: Springer Science+Business Media, LLC.
- 3M (Microbiology). 2006. Placas Petrifilm™ para el Recuento de Aerobios. Guía de interpretación. St. Paul, USA. Revisión: 2006-01. Referencia: 70-2008-8102-0. Consultado el 02 de feb de 2018. Disponible en: <https://multimedia.3m.com/mws/media/444944O/petrifilm-aerobic-count-plate-interpretation-guide-spanish.pdf>

# ANEXOS

## Anexo 1

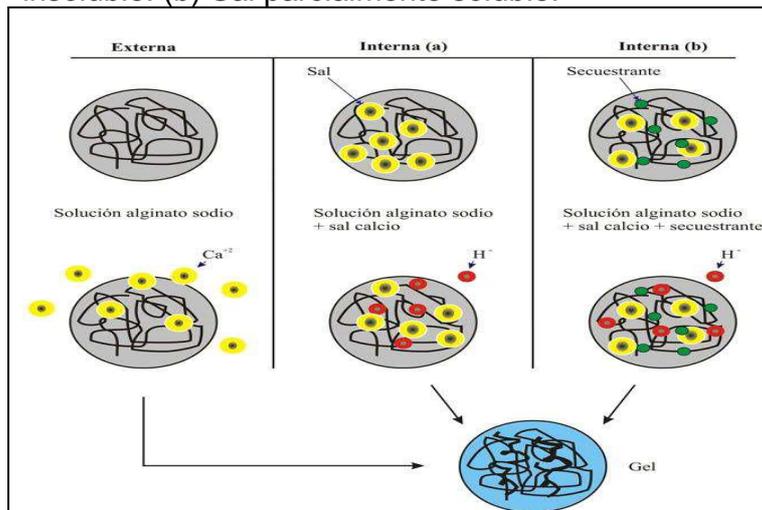
**Fig. 1:** Tipos de dispositivos extrusores: a: Atomizador con corte sistemático del chorro. b: Boquilla vibratoria. c: Disco atomizador. d: Flujo de aire coaxial. en: Potencial electrostático.



**Fuente:** Zuidam y Shimoni, 2010.

## Anexo 2

**Fig. 2:** Mecanismos de gelificación iónica. (a) Sal insoluble. (b) Sal parcialmente soluble.



**Fuente:** Martín Villena et al., 2009.

### Anexo 3

**Tabla 12.** Absorbancias obtenidas en espectrofotómetro a 730 nm. Para determinar

Absorbancia	Expresado en mg/ml		
	Muestras	Repetición 1	Repetición 2
Cascara de mango	0,031	0,018	0,010
Pulpa de mango	0,008	0,015	0,004

la cantidad total de compuestos fenólicos

Fuente: Acuña, L. 2018

### Anexo 4

**Tabla 13.** Concentración expresada en mg/ml reemplazando los valores de (X) para obtener (Y) según **grafico 1**. Para determinar la cantidad total de compuestos fenólicos.

Muestras	Concentración expresada en mg/ml		
	Repetición 1	Repetición 2	Repetición 3
Cascara de mango	0,00544	0,00349	0,00230
Pulpa de mango	0,00200	0,00305	0,00140

Fuente: Acuña, L. 2018

### Anexo 5

**TABLA 14.** Fórmula para conteo de regresión, concentración de compuestos fenólicos en mg ET / gr m.s.

Conteo de regresión de concentración	Utilizando (Concentración) Mol/ml x Masa molar trolox (gr/mol) = A(gr/ml) x 50ml = B (gr ET/5gr m.s.) = C (mg TEAC / gr m.s.)	Resultados expresados en mg TEAC / gr de m.s. cacao

Fuente: Mantuano, W. 2018.

## Anexo 6

**Tabla 15:** Absorbancia en el espectrofotómetro a los 6min de haber incorporado los 20 µL de extracto. Para determinar la Actividad Antioxidante.

<b>Actividad antioxidante</b>	<b>Lectura de Abs (Repetición 1)</b>		
Muestras	<b>Minuto 1</b>	<b>Minuto 6</b>	<b>Resultado</b>
PULPA	0,075	0,069	0,006
CASCARA	0,327	0,3	0,027
<b>Actividad antioxidante</b>	<b>Lectura de Abs (Repetición 2)</b>		
Muestras	Minuto 1	Minuto 6	Resultado
PULPA	0,076	0,074	0,002
CASCARA	0,282	0,25	0,032
<b>Actividad antioxidante</b>	<b>Lectura de Abs (Repetición 3)</b>		
Muestras	Minuto 1	Minuto 6	Resultado
PULPA	0,082	0,078	0,004
CASCARA	0,308	0,271	0,037

**Fuente:** Acuña, L. 2018.

## Anexo 7

**Tabla 16:** Concentración de AA expresada en uM/ml reemplazando los valores de (X) para obtener (Y) según grafico 2.

Cuantificación	Concentración expresada en uM/ml			
	Repetición 1	Repetición 2	Repetición 3	PROMEDIO
PULPA	22,531	5,459	13,995	<b>14,00</b>
CASCARA	112,159	133,499	154,839	<b>133,50</b>

**Fuente:** Acuña, L. 2018.