



Universidad Tecnológica de la Mixteca

Labor et Sapientia Libertas

**USO DE EXTRACTOS DE CÁSCARA DE MANGO (*Mangifera indica* L.) COMO
ADITIVO NATURAL MULTIFUNCIONAL SOBRE UN PRODUCTO CÁRNICO CON DOS
DIFERENTES FORMAS DE PROCESAMIENTO**

Tesis para obtener el grado de:

Maestro en Ciencias: Productos Naturales y Alimentos

Presenta:

I.A. Dalia Itzel Zafra Ciprián

Directora de tesis:

Dra. Luz Hermila Villalobos Delgado

Co-Directora:

Dra. Rocio Gómez Cansino

Huajuapán de León, Oaxaca, México. Marzo de 2021

La presente tesis está enmarcada en el Programa de estudios de posgrado de la Maestría en Ciencias: Productos Naturales y Alimentos, que pertenece al Programa Nacional de Posgrado de Calidad (PNPC), del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT).

Las actividades de este proyecto se realizaron en los laboratorios de Fisicoquímica y Biotecnología, ubicados en el Instituto de Agroindustrias, así como en el Taller de Procesamiento de Alimentos, Laboratorio de Ciencias de los Alimentos y Laboratorio de Química, de la Universidad Tecnológica de la Mixteca (UTM), Huajuapán de León, Oaxaca.

Dalia Itzel Zafra Ciprián fue apoyada con la beca (942962) financiada por el CONACyT.

ACTIVIDADES ACADÉMICAS Y DE INVESTIGACIÓN

Participación con la ponencia en modalidad oral “Effect of Ataulfo mango peel (*Mangifera indica* L.) as a natural antioxidant on the instrumental color of a raw meat product”. **Zafra-Ciprián, D.I.**, Villalobos-Delgado, L.H., Soto-Simental, S., Guzmán-Pantoja, L.E., Trujillo-Santiago, E., en el e-LatinFood 2020. 9th Food Science, Biotechnology & Safety Congress, organizado por la Asociación Mexicana de Ciencia de los Alimentos A. C, realizado del 11 al 13 de noviembre del 2020.

Asistencia al curso “Fundamentos Básicos de HACCP Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control”, en la XLV Semana de Química Internacional con sede en la Facultad de Ciencias Químicas de La Universidad Autónoma de Chihuahua, realizado del 05 al 09 de octubre de 2020, con la M.C. Diana Farías Arroyo.

Participación con la ponencia en modalidad oral “Uso de cáscara de mango Manila como antioxidante natural en un producto cárnico fresco”. **Zafra-Ciprián, D.I.**, Guzmán-Pantoja, L.E., Soto-Simental, S., Trujillo-Santiago, E., Villalobos-Delgado, L.H., en el marco del 4^o Congreso Internacional Digital en Alimentos Funcionales y Nutraceuticos: 2020 Rumbo al 2021, realizado del 10 al 12 de junio del 2020.

Participación como co-autora en el cartel científico “Extractos etanólicos de Hierba Santa (*Piper auritum*) como antioxidante natural en un producto cárnico cocido”. Trujillo-Santiago, E., Guzmán Pantoja, L.E., Santiago-Castro, J.T., **Zafra-Ciprián, D.I.**, Guzmán-Mendoza, D., Navarro-Olivera, A.A., Villalobos-Delgado L.H., en el marco del 4^o Congreso Internacional Digital en Alimentos Funcionales y Nutraceuticos: 2020 Rumbo al 2021, realizado del 10 al 12 de junio del 2020.

Asistencia al curso “Manejo Higiénico de los alimentos” de Grupo Ruyé: Consultoría Industrial y en Alimentos en Chihuahua, Chih., realizado del 22 al 24 de abril de 2020, con Ing. Yesenia Aide Hernández Silva

Participación como co-autora en el cartel científico “Cáscara de piña (*Ananas comosus*) como una alternativa de antioxidante natural en un producto cárnico fresco”. Trujillo-Santiago, E., Villalobos-Delgado. L.H., Santiago-Castro. J.T., **Zafra-Ciprián, D.I.**, López-Rodríguez. E., Guzmán-Pantoja, L.E., en la XLVI Reunión Científica de la Asociación Mexicana para la Producción Animal y Seguridad Alimentaria con sede en la Ciudad de Oaxaca, Oax., del 16 al 18 de octubre de 2019.

Asistencia al curso “HPLC: Principios y Aplicaciones en Investigación e Industria, de las Cromatografías de Líquidos y Gases” de la XLIV Semana de Química internacional con sede en la Facultad de Ciencias Químicas de La Universidad Autónoma de Chihuahua, realizado del 7 al 11 de octubre de 2019, con el Dr. David Chávez Flores.

Participación con el cartel científico “Evaluación antimicrobiana de extracto acuoso y etanólicos a partir de Hoja Santa y cáscaras de mango”. **Zafra Ciprián, D.I.**, Trujillo-Santiago, E., Villalobos-Delgado, L.H., Gómez Cansino, R., Soto Simental, S., Nevárez-Moorillón, G.V., en la XX Jornadas de Investigación 2019 de la Facultad de Ciencias Químicas con sede en Chihuahua, Chihuahua el 9 de octubre de 2019.

Estancia de investigación en la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Chihuahua, del 5 de agosto al 4 de octubre de 2019, bajo la dirección de la Dra. Guadalupe Virginia Nevárez Moorillón.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Tecnológica de la Mixteca por darme la oportunidad de crecer profesionalmente y recibir una formación de calidad, de igual forma al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca otorgada.

De manera muy especial quiero agradecer a la Dra. Luz H. Villalobos Delgado, mi directora de tesis, por darme la oportunidad para realizar esta tesis de maestría, su apoyo incondicional y sobre todo por todas las enseñanzas que me regaló durante este tiempo ¡Muchas gracias! Así mismo, a la Dra. Rocio Gómez Cansino, codirectora de este proyecto de investigación por su apoyo y enseñanzas para poder llevar a cabo este trabajo.

También quiero agradecer a los miembros del comité revisor: Dra. Laura Márquez de Santis, Dra. Mirna Patricia Santiago Gómez, Dra. Guadalupe Virginia Nevárez Moorillón y Dr. Javier Mateo Oyagüe, por todo su apoyo y enseñanzas que me otorgaron durante el desarrollo de este trabajo de investigación.

A la Dra. Guadalupe Virginia Nevárez Moorillón, por permitirme realizar una estancia de investigación, en el Laboratorio de Microbiología III de la Universidad Autónoma de Chihuahua, realizando pruebas *in vitro* de los extractos empleados en este proyecto.

Al Dr. Rogelio Valadez Blanco, por el apoyo con el colorímetro, a la Dra. Paula Cecilia Guadarrama Mendoza, Jefa de la Carrera de Ingeniería en Alimentos, por permitirme usar otros equipos pertenecientes a la carrera. Al Dr. Sergio Soto Simental de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, por su apoyo con la liofilización de los extractos. A la Dra. Ludmila E. Guzmán Pantoja por todo su apoyo y dedicación en la determinación del color instrumental y en las determinaciones microbiológicas realizadas en las muestras de carne. A la Dra. Patricia Gallegos del Instituto de Minería, por todo el apoyo recibido.

A la I.A. Irma González Cruz, I.A. Rocío Espinoza Rivera y I. A. Tenoch Santiago Castro, por su apoyo y orientación en cada uno de los laboratorios para poder realizar este proyecto.

DEDICATORIAS

A mi mamá Lidia Ciprian Nieto, por siempre creer en mí y por todo su apoyo incondicional en cada uno de los retos que me planteo, por sus palabras de amor y regaños, que sin ellos no sería la persona que soy. Por enseñarme que el conocimiento es la llave de muchas puertas y ventanas, más cuando eres mujer. Por amarme y cuidarme siempre, inclusive más allá de lo que creo merecer ¡¡Mami TE AMO!!

A mi hermano Hassan Ali Zafra Ciprian y a mi cuñada Lucía Guadalupe Salomón Valdéz, por la paciencia y amor que me brindaron, cuando enfrentaba obstáculos durante el camino, por siempre ayudarme y apoyarme en todo lo que podían.

Agradezco por la familia que tengo, por que, sin su apoyo, paciencia, amor y sabiduría de todos ellos, no estaría en donde estoy, por que siempre me alentaron y nunca dudaron de que tenga la capacidad de enfrentar cualquier reto que la vida me ponga. Sobre todo, por enseñarme día con día, que la familia es uno de los regalos de la vida más sagrados que podemos tener.

A Jesús Morales Bautista, por confortarme siempre que lo necesitaba, por aquellos días en los que me acompañaste cuando tenía miedo y nunca soltaste mi mano. Por tus palabras de aliento y por enseñarme a ver la vida positivamente y ha siempre aprender de los retos. Sobre todo, por todo tu amor y cariño.

RESUMEN

En el presente trabajo se evaluó el efecto multifuncional de la incorporación de extractos de cáscaras de mango (*Mangifera indica* L.) de las variedades Manila y Ataúlfo, sobre un producto cárnico a dos diferentes formas de procesamiento, almacenado durante 11 días a 4 ± 1 °C. Se realizó la caracterización físico-química y el color instrumental de ambas variedades. También, se determinó el contenido de polifenoles totales (CPT), contenido de flavonoides totales (CFT) y la actividad antioxidante (AA) de los extractos etanólicos e hidroetanólicos (etanol:agua, 80/20, v/v) de ambas variedades. Además, se determinó la actividad antimicrobiana *in vitro* mediante microdilución sobre cepas de *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *S. Typhimurium*, *E. coli* y *Ps. fluorescens*. Así mismo, se evaluó el efecto de los extractos sobre la oxidación lipídica en carne para hamburguesas crudas y crudas-cocidas con los extractos que presentaron mayor actividad antioxidante de cada variedad, obteniéndose los siguientes tratamientos: 1) carne sin extracto, control (CTL), 2) carne con extracto de cáscara de mango Ataúlfo a una concentración de 1 g/kg carne (C₁A), 3) carne con extracto de cáscara de mango Ataúlfo a una concentración de 2 g/kg carne (C₂A), 4) carne con extracto de cáscara de mango Manila a una concentración de 1 g/kg carne (C₁M), 5) carne con extracto de cáscara de mango Manila a una concentración de 2 g/kg carne (C₂M), 6) carne con solución de ascorbato de sodio (ASC) y 7) carne con butilhidroxitolueno (BHT). En la carne para hamburguesas, se determinaron los valores de las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS), el contenido de metamioglobina, pH y el color instrumental (L^* , a^* , b^* , a^*/b^* , Croma [C^*], tono [Hue] y ΔE_{1-11}), como parámetros de evaluación de la oxidación lipídica y frescura de la carne. Finalmente, también se determinó el recuento total de bacterias aerobias.

Los resultados de la caracterización para la fruta de mango, mostraron que la variedad Ataúlfo obtuvo valores de pH de 4.18, mientras que, para el color instrumental, mostró mayor tendencia al color amarillo con valores de b^* y tono de 51.01 y 73.47 respectivamente. El rendimiento de la cáscara deshidratada fue mayor en Ataúlfo con respecto a Manila. Los extractos etanólicos de Ataúlfo y Manila mostraron mayor CPT (343.95 y 284.56 mg EAG/g), CFT (166.51 y 130.35 mg EQ/g), respectivamente, y mayor actividad antioxidante, destacando la variedad Ataúlfo con un valor de 77.58 %. Respecto a la actividad antimicrobiana, ambos extractos presentaron un mayor efecto inhibitorio sobre cepas Gram positivas (*S. aureus* y *L. monocytogenes*). En lo que se refiere a los resultados de la caracterización en la carne cruda al día 11, los tratamientos C₂A y C₁A, presentaron los valores más bajos en el pH (6.30 y 6.35) y los TBARS (0.26 y 0.21 mg MAD/kg carne), así como, un mayor enrojecimiento, con respecto al CTL. Para el contenido de metamioglobina, los resultados no mostraron diferencia significativa entre tratamientos ni a través del periodo de almacenamiento. En la carne cocida, al día 11, C₂A mostró los valores más bajos de pH (6.39) y TBARS (0.16 mg MAD/kg carne). Por último, para el recuento total de bacterias aerobias en carne cruda, los tratamientos C₁M (5.43 log₁₀ UFC/g), C₁A (5.10 log₁₀ UFC/g) y C₂A (5.55 log₁₀ UFC/g) presentaron el recuento microbiano más bajo, al día 6 de almacenamiento. De esta manera, los extractos etanólicos de cáscara de mango Ataúlfo, podrían ser utilizados como posibles antioxidantes naturales en productos cárnicos.

ABSTRACT

This paper evaluated the multifunctional effect of incorporating mango peel extracts (*Mangifera indica* L.) from Manila and Ataúlfo varieties on a meat product with two different processing methods stored for 11 days at $4\pm 1^\circ\text{C}$. The physical-chemical characterization and instrumental color of both varieties were performed. Moreover, total polyphenol content (TPC), total flavonoid content (TFC) and antioxidant activity (AA) of ethanolic and hydroethanolic extracts (ethanol:water, 80/20, v/v) of both varieties were also determined. In addition, the in vitro antimicrobial activity was determined by microdilution on strains of *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *S. Typhimurium*, *E. coli* and *Ps. fluorescens*. Furthermore, the effect of extracts on lipid oxidation in raw and raw-cooked burgers was evaluated with extracts that exhibited the highest antioxidant activity of each variety with the following treatments: 1) meat without extract, control (CTL), 2) meat with Ataúlfo mango peel extract at a concentration of 1 g/kg meat (C₁A), 3) meat with Ataúlfo mango peel extract at a concentration of 2 g/kg meat (C₂A), 4) meat with Manila mango peel extract at a concentration of 1 g/kg meat (C₁M), 5) meat with Manila mango peel extract at a concentration of 2 g/kg meat (C₂M), 6) meat with sodium ascorbate solution (ASC) and 7) meat with butylhydroxytoluene (BHT). For the burger meat, the values of substances reactive to thiobarbituric acid (TBARS), metmyoglobin content, pH and instrumental color (L^* , a^* , b^* , a^*/b^* , Chroma [C^*], tone [Hue] and ΔE_{1-11}) were determined as evaluation parameters for lipid oxidation and meat freshness. Finally, the total count of aerobic bacteria was also determined.

The results of the characterization for mango fruit showed that the Ataúlfo variety obtained pH values of 4.18, while for instrumental color, it showed a greater tendency towards a yellow coloration with b^* and tone values of 51.01 and 73.47 respectively. The yield of the dehydrated peel was higher in the Ataúlfo variety compared to Manila. The ethanolic extracts of Ataúlfo and Manila showed higher TPC (343.95 and 284.56 mg EAG/g) as well as TFC (166.51 and 130.35 mg EQ/g), respectively, and the highest antioxidant activity, with the Ataúlfo variety in particular showing a value of 77.58 %. With regard to antimicrobial activity, both extracts had a greater inhibitory effect on Gram positive strains (*S. aureus* and *L. monocytogenes*). Regarding the results of characterization in raw meat on day 11, the C₂A and C₁A treatments had the lowest pH (6.30 and 6.35) and TBARS values (0.26 and 0.21 mg MAD/kg meat), as well as greater redness compared to CTL. Regarding metmyoglobin content, the results showed no significant difference between treatments or throughout the storage period. In cooked meat on day 11, C₂A showed the lowest pH (6.39) and TBARS values (0.16 mg MAD/kg meat). Finally, for the total count of aerobic bacteria in raw meat, treatments C₁M (5.43 log₁₀ UFC/g), C₁A (5.10 log₁₀ UFC/g) and C₂A (5.55 log₁₀ UFC/g) showed the lowest microbial count on day 6 of storage. Therefore, the ethanolic extracts from Ataúlfo mango peel could be used as possible natural antioxidants in meat products.

ÍNDICE

1	INTRODUCCIÓN	1
2	MARCO TEÓRICO	3
2.1	Mango	3
2.1.1	Variedades de mango	5
2.1.1.1	Mango Manila	5
2.1.1.2	Mango Ataúlfo	6
2.1.2	Importancia del aprovechamiento de los subproductos agroindustriales	6
2.1.3	Subproductos de mango	7
2.2	Carne y productos cárnicos	8
2.2.1	Carne molida	9
2.3	Oxidación lipídica en carne	9
2.3.1	Mecanismo oxidativo en carne y productos cárnicos	10
2.4	Oxidación de la mioglobina	11
2.4.1	Mecanismo oxidativo de la mioglobina	12
2.5	Interrelación entre los diversos procesos oxidativos de la carne	13
2.6	Sustancias que inhiben la oxidación: Antioxidantes	14
2.6.1	Clasificación de los antioxidantes	15
2.6.2	Usos de antioxidantes sintéticos en carne	16
2.6.3	Uso de antioxidantes naturales en carne	16
2.7	Compuestos polifenólicos	17
2.7.1	Capacidad antioxidante de los polifenoles	18
2.7.2	Actividad antimicrobiana de los polifenoles	18
2.7.3	Clasificación de compuestos polifenólicos	18
2.7.3.1	Flavonoides	20
2.7.3.2	Ácidos fenólicos	22
2.8	Métodos de extracción de compuestos polifenoles de residuos sólidos	22
2.8.1	Técnicas convencionales	23
2.9	Actividad antioxidante	24
2.10	Métodos de evaluación para la oxidación lipídica y proteica de la carne	25
2.10.1	Sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS)	25
2.10.2	Color instrumental	26
2.10.3	Deterioro de la carne por microorganismos	27
3	ESTADO DEL ARTE	29
4	JUSTIFICACIÓN	32
5	HIPÓTESIS	33
6	OBJETIVO	34
6.1	Objetivo general	34
6.2	Objetivos específicos	34
7	METAS	35
8	MATERIAL y MÉTODOS	36
8.1	Reactivos	36
8.2	Equipos	36

8.3	Diseño experimental.....	36
8.4	Diseño de tratamientos	37
8.5	Adquisición de la materia prima.....	38
8.5.1	Propiedades físico-químicas y color instrumental de la fruta de mango.....	38
8.5.1.1	Peso y longitud.....	38
8.5.1.2	Contenido de sólidos solubles	38
8.5.1.3	Determinación de pH.....	39
8.5.1.4	Acidez titulable	39
8.5.1.5	Firmeza.....	39
8.5.1.6	Evaluación del color instrumental.....	39
8.6	Obtención y acondicionamiento de la cáscara.....	39
8.6.1	Secado y rendimiento de la cáscara de mango	40
8.6.2	Obtención del polvo de cáscara de mango	40
8.7	Obtención de los extractos de cáscara de mango	40
8.7.1	Extractos etanólicos	40
8.8	Secado por liofilización de los extractos etanólicos.....	41
8.8.1	Extractos hidroetanólicos	41
8.9	Secado por liofilización de los extractos hidroetanólicos.....	41
8.10	Caracterización de los extractos de ambas variedades.	42
8.10.1	Contenido de polifenoles totales	42
8.10.2	Contenido de flavonoides totales	42
8.10.3	Actividad antioxidante	42
8.10.4	Actividad antimicrobiana <i>in vitro</i> de los extractos	43
8.10.4.1	Cepas bacterianas	43
8.10.4.2	Técnica de microdilución en caldo.....	43
8.10.4.3	Concentración mínima inhibitoria (CMI)	43
8.10.4.4	Concentración mínima bactericida (CMB)	45
8.11	Caracterización de la carne con extractos de cáscara de mango.....	45
8.11.1	Preparación y acondicionamiento de la carne cruda para hamburguesas..	45
8.11.2	Preparación y acondicionamiento de las muestras de carne cocida.....	46
8.11.3	Determinación de pH de las muestras de carne	46
8.11.4	Determinación de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS)	47
8.11.5	Contenido de metamioglobina	47
8.11.6	Determinación de color instrumental	47
8.11.7	Análisis microbiológico en carne: recuento total de bacterias aerobias.....	48
8.12	Análisis estadístico	48
9	RESULTADOS Y DISCUSIONES	49
9.1	Propiedades físico-químicas y color instrumental de ambas variedades de mango.....	49
9.2	Rendimiento de la cáscara de mango	50
9.3	Contenido de polifenoles y flavonoides totales y porcentaje de actividad antioxidante de los extractos de cáscara de mango.....	51
9.4	Actividad antimicrobiana <i>in vitro</i>	54
9.4.1	Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de los extractos etanólicos e hidroetanólicos de ambas variedades.....	54

9.4.2	Concentración Mínima Bactericida (CMB) de los extractos etanólicos e hidroetanólicos de ambas variedades.....	57
9.5	Caracterización de la adición de extractos de cáscara de mango sobre carne de bovino.....	60
9.5.1	Efecto de la incorporación de cáscara de mango sobre el pH, los TBARS y el contenido de metamioglobina en carne para hamburguesas crudas.	60
9.5.2	Efecto de la incorporación de cáscara de mango sobre las variables de color instrumental en carne para hamburguesas crudas.	64
9.5.3	Efecto de la incorporación de cáscara de mango sobre el pH y TBARS en carne para hamburguesas crudas-cocidas.....	70
9.5.4	Efecto de la incorporación de cáscara de mango sobre el pH y el recuento total en carne para hamburguesas crudas.....	73
10	CONCLUSIONES	77
11	PERSPECTIVAS	78
12	REFERENCIAS	79

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Estructura química de algunos compuestos flavonoides y xantona.....	4
Figura 2.	Mecanismo oxidativo de la mioglobina.....	12
Figura 3.	Estructura molecular de la metamioglobina.....	13
Figura 4.	Clasificación de compuestos polifenólicos.....	19
Figura 5.	Estructura básica de un flavonoide.....	21
Figura 6.	Mango Ataúlfo.....	38
Figura 7.	Mango Manila.....	38
Figura 8.	Secado de cáscaras de mango.....	40
Figura 9.	Cáscara de mango deshidratada.....	40
Figura 10.	Técnica de microdilución en caldo.....	43
Figura 11.	Distribución empleada en la evaluación <i>in vitro</i> de los extractos etanólicos de cáscara de mango para cada una de las bacterias.....	44
Figura 12.	Determinación de CMI con resazurina.....	45
Figura 13.	Rendimiento de la cáscara húmeda y seca de ambas variedades de mango.....	51

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Contenido de glucósidos de flavonol y xantona en cáscara de la variedad Manila (mg/kg) en base seca.....	6
Tabla 2.	Compuestos polifenólicos en cáscara de mango (mg/kg) en base seca.....	8
Tabla 3.	Límites máximos de antioxidantes sintéticos en productos cárnicos (mg/kg).	16
Tabla 4	Compuestos presentes en extractos de cáscara de mango obtenidos con diferentes disolventes y temperaturas (mg/100 g, base seca).....	24
Tabla 5.	Descripción por etapas del proyecto a realizar.....	37
Tabla 6.	Diseño de tratamientos.....	37
Tabla 7.	Propiedades fisicoquímicas y color instrumental de ambas variedades de mango.....	50
Tabla 8.	Comparación del contenido de polifenoles totales (CPT), contenido de flavonoides totales (CFT) y actividad antioxidante (AA, %) por dos técnicas de extracción en extractos de cáscara de mango Ataúlfo.....	52
Tabla 9.	Comparación del contenido de polifenoles totales (CPT), contenido de flavonoides totales (CFT) y actividad antioxidante (AA, %) por dos técnicas de extracción en extractos de cáscara de mango Manila.....	53
Tabla 10.	Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de los extractos etanólicos (EtOH) e hidroetanólicos (EtOH:H ₂ O) de ambas variedades.....	56
Tabla 11.	Concentración Mínima Bactericida (CMB) de los extractos etanólicos (EtOH) e hidroetanólicos (EtOH:H ₂ O) de ambas variedades.....	59
Tabla 12.	Efecto de la incorporación del extracto de cáscara de mango Ataúlfo y Manila sobre el pH, TBARS (mg de MAD/kg carne) y el contenido de metamioglobina (MM%) en carne para hamburguesas crudas almacenadas a 4±1 °C.....	63
Tabla 13.	Efecto de la incorporación de extractos de cáscara de mango de la variedad Ataúlfo y Manila sobre el color en carne para hamburguesas crudas almacenadas a 4±1 °C durante 11 días de almacenamiento.....	68
Tabla 14.	Efecto de extractos de cáscara de mango de ambas variedades sobre el pH y TBARS (mg de malonaldehído/kg carne) en carne para hamburguesas crudas-cocidas almacenadas a 4±1 °C.....	72
Tabla 15.	Efecto de la adición de extractos de cáscara de mango de ambas variedades sobre el pH y el recuento total de bacterias aerobias (RTB) en carne para hamburguesas crudas almacenadas a 4±1 °C.....	76

SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS

AA	Actividad Antioxidante
AMSA	Asociación Americana de Ciencia de la Carne, por sus siglas en inglés <i>American Meat Science Association</i>
CFT	Contenido de Flavonoides Totales
CMB	Concentración mínima bactericida
CMI	Concentración mínima inhibitoria
CPT	Contenido de Polifenoles Totales
DAD	Detector de arreglo de diodos, por sus siglas en inglés <i>Diode Array Detector</i>
DPPH*	Radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo
EQ	Equivalente de quercetina
ESI	Ionización por electrospray, por sus siglas en inglés <i>Electrospray ionization</i>
ET	Equivalentes de Trolox
EtOH	Etanólico
EtOH:H ₂ O	Hidroetanólico
HPLC	Cromatografía de líquidos de alto desempeño, por sus siglas en inglés <i>High Performance Liquid Chromatography</i>
HPLC-q-TOF	Cromatógrafo de líquidos de alta resolución acoplado a un espectro de masas con analizador cuadrupolo tiempo de vuelo, por sus siglas en inglés <i>High Performance Liquid Chromatography-Quadrupole Time of Flight</i>
ICMSF	Comisión Internacional de Especificaciones Microbiológicas para Alimentos, por sus siglas en inglés <i>International Commission on Microbiological Specifications for Foods</i>
LC/MS	Cromatografía de líquidos/Espectrometría de masas
ORAC	Capacidad de absorción de radicales de oxígeno, por sus siglas en inglés <i>Oxygen Radical Absorbance Capacity</i>
pH	Potencial de hidrógeno
ROS	Especies reactivas de oxígeno, por sus siglas en inglés <i>Reactive Oxygen Species</i>
RTB	Recuento total de bacterias
SST	Sólidos solubles totales
TBARS	Sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico, por sus siglas en inglés <i>Thiobarbituric Acid Reactive Substances</i>
UFC	Unidades formadoras de colonia
UV-vis	Ultravioleta-visible
ΔE*	Cambio de color total

1 INTRODUCCIÓN

El deterioro en la calidad de la carne depende en gran medida de la composición de la carne y las condiciones de almacenamiento (Del Blanco et al., 2017). Estas condiciones hacen que la carne y productos cárnicos sean susceptibles a los cambios oxidativos y al deterioro bacteriano (Jiang & Xiong, 2016). La oxidación de los lípidos es uno de los principales factores que afectan la calidad de la carne y productos cárnicos debido a que causa deterioro afectando el color, el sabor, la textura y el valor nutricional de estos alimentos (Biswas et al., 2012; Lee et al., 2010). La oxidación lipídica se encuentra influenciada por la composición de los fosfolípidos, la cantidad de ácidos grasos poliinsaturados, la presencia de iones metálicos, oxígeno, pigmentos hemo, procesos mecánicos y la adición de sal durante el procesamiento. Esta se inicia cuando los ácidos grasos poliinsaturados reaccionan con el oxígeno molecular a través del mecanismo en cadena de radicales libres que forman peróxidos (Biswas et al., 2012). La carne y los productos cárnicos sometidos a procesamiento y almacenamiento sufren cambios en sus características físicas y químicas que conducen al desarrollo de radicales libres que inician la oxidación de los ácidos grasos poliinsaturados y destruyen los sistemas antioxidantes naturales (Hygreeva et al., 2014).

No obstante, la calidad de la carne puede protegerse controlando la oxidación de lípidos usando antioxidantes sintéticos (Lee et al., 2010), tales como butilhidroxianisol (BHA), butilhidroxitolueno (BHT), galato de propilo (PG) y tertbutilhidroquinona (TBHQ), se han utilizado ampliamente en la industria de la carne por su eficacia (Haak et al., 2009; Lee et al., 2010). Sin embargo, el uso de estos antioxidantes sintéticos se ha restringido debido a los posibles riesgos a la salud y la actividad carcinogénica que tienen sobre el cuerpo humano (Lee et al., 2010).

Por este motivo, se ha aumentado el interés por el uso de extractos naturales, a partir de frutas, plantas, hortalizas, cereales y otros materiales vegetales ricos en sustancias antioxidantes, los cuales se han comercializado para aplicaciones alimenticias y nutraceuticas (Haak et al., 2009). Por lo anterior, se ha propuesto el uso de diferentes subproductos agroindustriales a base de frutas o plantas como antioxidantes naturales para elaborar preparaciones de carne y productos cárnicos. Las porciones no comestibles de la fruta (cáscara y semillas) pueden tener cantidades considerables de micronutrientes, minerales, fibras, vitaminas y compuestos fitoquímicos secundarios más altos que sus porciones comestibles. De hecho, estas porciones no comestibles pueden contener

compuestos bioactivos con mayor actividad antioxidante que las de la pulpa, y tener perfiles fitoquímicos y distintos de otras partes de la fruta. De esta manera, los subproductos agroindustriales pueden ser considerados para su aplicación en suplementos nutraceuticos, aditivos, nuevos alimentos y productos farmaceuticos (Ribeiro & Schieber, 2010). En el caso de nuevos alimentos, dichos subproductos podrían incorporarse directamente en carne y productos cárnicos (Villalobos-Delgado et al., 2019).

El mango (*Mangifera indica* L.) es una de las cosechas frutales más importantes con una amplia aceptación debido a su succulencia, sabor exótico y valor nutricional (Gu et al., 2019). En México, el mango es una fruta de clima tropical cultivada en los estados como Sinaloa, Guerrero, Nayarit, Chiapas, Oaxaca, Veracruz y Michoacán (SAGARPA, 2017), y en el caso del estado de Oaxaca se cultiva en las regiones del Istmo, Cañada, Costa y Papaloapan. Dentro de las principales variedades que se cultivan están Manila, Ataúlfo y Atkins (García Luna, 2003). Aparte del consumo como fruta madura, generalmente se procesa en forma de mermeladas, bebidas, entre otros (Gu et al., 2019; Link et al., 2018; Liu et al., 2013). Diversos autores reportan que el mango es una fruta rica de compuestos antioxidantes que promueven la salud, tales como carotenoides, compuestos fenólicos, ácido ascórbico, quercetina, mangiferina y vitaminas (Lawson et al., 2019; Link et al., 2018; Liu et al., 2013). Los azúcares (fructosa, glucosa y sacarosa) y los ácidos orgánicos dan al mango su sabor característico, mientras que los compuestos volátiles distinguen su aroma. Se ha informado que la cáscara y el hueso contienen varios compuestos bioactivos valiosos entre los que destacan polifenoles y carotenoides los cuales presentan actividad antioxidante (Ajila et al., 2007; Can-Cauich et al., 2017; Sumaya-Martínez et al., 2012), lo que sugiere que extractos de cáscara de mango pueden ser utilizados como una fuente de antioxidantes naturales en la industria cárnica.

Por lo anterior, el presente proyecto tuvo como objetivo evaluar el efecto multifuncional de extractos de cáscara de mango (*Mangifera Indica* L.) en carne para hamburguesas crudas almacenadas durante 11 días a 4 ± 1 °C. En los extractos de cáscara de mango, se evaluó la actividad antioxidante, el contenido de polifenoles y flavonoides totales y la actividad antimicrobiana, para comparar la funcionalidad de cada extracto. Posteriormente, se evaluó el efecto de los extractos sobre la oxidación lipídica (TBARS), el contenido de metamioglobina, color instrumental, pH y recuento microbiológico en carne para hamburguesas cruda y cruda-cocida.

2 MARCO TEÓRICO

2.1 Mango

El mango (*Mangifera indica* L.) es una fruta tropical económicamente importante (Palafox-Carlos et al., 2012) y popular debido a su sabor único, precio accesible y cualidades nutrimentales. Es miembro de la familia Anacardiáceae y crece predominantemente en climas cálidos tropicales y subtropicales tales como Asia, África y América. Existen alrededor de mil variedades diferentes de mangos alrededor del mundo y esta fruta es considerada una de las más consumidas en el mundo (Shah et al., 2010; Talcott & Talcott, 2009). Actualmente, Asia es la mayor región productora de mango, con una producción anual de 34.6 millones de toneladas, que representa el 74% de la producción mundial de mango; seguido de América (13%; 4 millones de toneladas), África (3 millones de toneladas) y una muy pequeña parte de Oceanía (0.10%; 0.04 millones de toneladas) (Lawson et al., 2019). De acuerdo con SAGARPA (2017) en el año 2016, México ocupó el quinto lugar en producción a nivel mundial, con una producción aproximada de 1.8 millones de toneladas.

De acuerdo con la variedad, el periodo de maduración se caracteriza por un aumento en el contenido de azúcar y el color del mango cambia de verde oscuro a amarillo naranja/rojo (Lawson et al., 2019; Salvi et al., 2017). Los cambios en el color de la cáscara facilitan la identificación de la etapa de madurez apropiada para la cosecha y el consumo (Lawson et al., 2019). El mango tiene un olor y sabor dulce, es extremadamente jugoso, con un rango de sabor desde muy dulce hasta semiácido o agrio. Es una fruta con hueso amarillento pálido y no se separa fácilmente de la pulpa; es plano, ovalado o con forma de riñón y puede ser fibroso. El hueso contiene uno o más embriones, según la variedad o el tipo (Lobo & Sidhu, 2017).

Se ha reportado, que el mango es una fruta rica en compuestos bioactivos tales como ácidos fenólicos (ácido gálico, ácido elágico), esteroides fenólicos, flavonoides (quercetina, kaempferol), mangiferina, carotenoides y vitaminas (Link et al., 2018; Liu et al., 2013; Jutiviboonsuk & Sardsaengjun, 2010) (Figura 1) que promueven la salud, previenen enfermedades cardiovasculares, aterosclerosis y disminuyen el riesgo de algunos tipos de cáncer (Palafox-Carlos et al., 2012). El atractivo color del mango se debe principalmente a la presencia abundante de β -caroteno, que proporciona la mayor parte del total de carotenoides (48-84%) en el mango (Liu et al., 2013).

Por su parte, la mangiferina pertenece a las xantonas, uno de los antioxidantes más potentes conocidos en la actualidad. Se cree que, la actividad antioxidante de la mangiferina supera a la de las vitaminas C y E. Asimismo, la mangiferina es farmacológicamente activa y un antioxidante polifenólico natural presente en la corteza, frutas, raíces y hojas de *M. indica*. Se ha reportado, que el contenido de mangiferina en la pulpa de mango es de aproximadamente 4.4 mg/kg, en el hueso es de 42 mg/kg, y en la cáscara seca de mango es de 1690 mg/kg (Masibo & He, 2008).

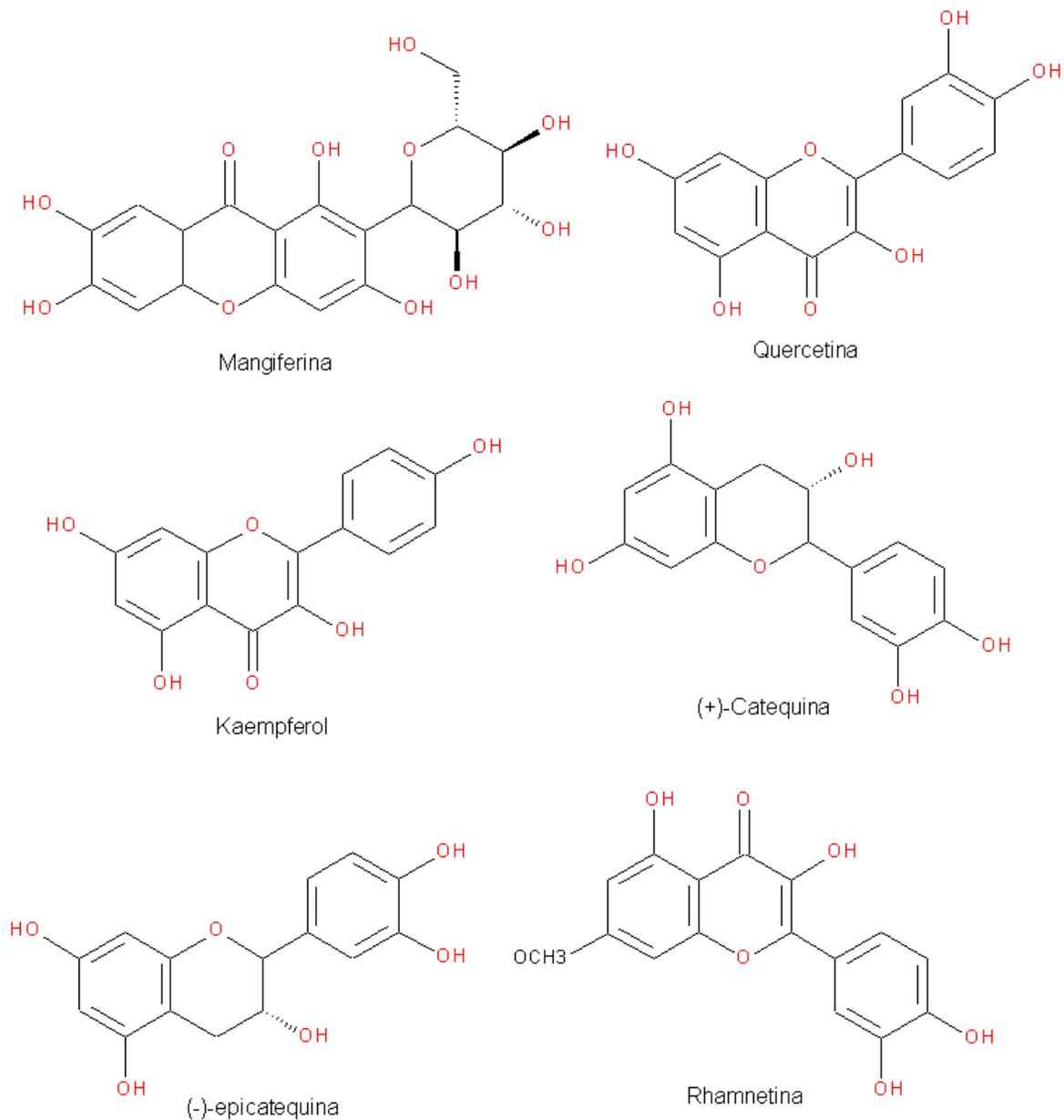


Figura 1. Estructura química de algunos compuestos flavonoides y xantona. (Masibo & He, 2008).

La forma más consumida de esta fruta es en fresco o como postre. Sin embargo, el procesamiento del mango genera una cantidad sustancial de productos terminados, tales como: puré/pulpa, jugo concentrado, mermelada, mangos secos y deshidratados, entre otros (Evans et al., 2017; Salvi et al., 2017; Santos et al., 2013). En estas aplicaciones industriales se utiliza principalmente la pulpa generando como desperdicio el bagazo, el hueso y la piel del mango, los cuales representan cerca del 35 al 60% del peso total de la fruta (Evans et al., 2017). En promedio, el porcentaje de desperdicio en el aprovechamiento de la fruta de mango es del 12-15% en cáscara y bagazo del 5-10% y del 15-20% correspondiente al hueso (Santos et al., 2013).

Existen investigaciones en las que se ha reportado que la cáscara de mango es una fuente rica en compuestos como polifenoles, vitamina E y C, fibra dietética, celulosa, hemicelulosa, lípidos, proteínas, enzimas y pectina, con actividad antioxidante y antiinflamatoria (Ajila et al., 2007; Jahurul et al., 2015; Sumaya-Martínez et al., 2012), lo que sugiere que los extractos de cáscara de mango pueden ser utilizados como una fuente de antioxidantes naturales en la industria cárnica. Estos valiosos compuestos también son beneficiosos para la salud humana.

2.1.1 Variedades de mango

El género *Mangifera* comprende 69 especies. Estas especies se encuentran distribuidas en una amplia zona geográfica de México principalmente centro y sur del país. Entre las principales variedades de mango que se producen destacan la variedad “Manila”, “Ataúlfo”, “Haden”, “Kent”, “Tommy Atkins”, “Keitt”, “Sensation”, “Zill” e “Irwing” (CONASPROMANGO, 2012).

2.1.1.1 Mango Manila

Una de las principales variedades que se cultiva en México es el Manila. Cultivado en el estado de Veracruz (Santos et al., 2013). El mango Manila tiene un sabor dulce, su pulpa es amarilla y su textura firme. Tiene bajo contenido de fibra, posee una forma elíptica con un tamaño mediano. El color es amarillo, tiene cáscara delgada y su vida útil es corta. Se produce en la mayoría de las regiones de México y su peso se ubica entre los 200 a 275 g (Lagunes et al., 2007). El periodo de cosecha es entre los meses de enero y agosto. Esta variedad de mango se destaca por su uso en la producción de jugos en el mercado interno, aunque una pequeña parte se exporta a EE. UU., esto según datos de SAGARPA (2017). Berardini et al. (2005a), reportaron el contenido de compuestos de glucósidos de flavonol y

xantona en cáscara seca de esta variedad utilizando la técnica de HPLC y LC-MS (Tabla 1).

Tabla 1. Contenido de glucósidos de flavonol y xantona en cáscara de la variedad Manila (mg/kg) en base seca.

Compuesto	Cantidad (mg)
Mangiferina	43.5 ± 9.8
Isomangiferina	11.5 ± 1.2
Galato de mangiferina	7.8 ± 0.7
Galato de isomangiferina	3.0 ± 0.1
Quercetina - diglucosidasa	145.9 ± 0.0
Quercetina – 3-O-gal	430.6 ± 18.4
Quercetina – 3-O-glc	282.5 ± 12.9
Quercetina – 3-O-xylosido	39.2 ± 2.9
Quercetina – 3-O-arap	27.6 ± 1.2
Quercetina – 3-O-araf	17.9 ± 1.2
Quercetina – 3-O-rha	15.6 ± 0.6
Kaempferol – 3-O-glc	16.8 ± 1.1
Rhamnetina 3-O-gal/glc	14.6 ± 1.7
Quercetina	1.7 ± 0.2
Total	1058 ± 25.1

(Berardini et al., 2005b)

2.1.1.2 Mango Ataúlfo

La variedad Ataúlfo tiene un sabor dulce y una textura cremosa, es pequeño en comparación con las otras variedades, su semilla no es muy grande, lo que permite obtener más pulpa, su color es amarillo brillante y su forma aplanada y ovalada. El periodo de cosecha es entre febrero a agosto. Su longitud va de 12.5 a 14 cm, con un ancho de 5.5 a 6 cm y un peso entre 180 y 260 g. Este tipo de mango es direccionado tanto al mercado nacional como al internacional, principalmente a los EE. UU. Se consume directamente como fruta fresca y es preferido para la elaboración en ensaladas, combinadas con otros ingredientes dulces y en postres (Legiscomex, 2014). En la variedad Ataúlfo los polifenoles identificados en la parte comestible de este mango comprenden un rango de compuestos tales como galoil glucósido, glucósidos de flavonol, mangiferina y galotaninos de alto peso molecular (Talcott & Talcott, 2009).

2.1.2 Importancia del aprovechamiento de los subproductos agroindustriales

La industria agroalimentaria genera una gran cantidad de subproductos que se generan en diferentes pasos del proceso industrial y, que normalmente no tienen uso adicional y comúnmente se desperdician o descartan (da Silva et al., 2014). Las cáscaras, huesos,

vástagos, hojas, aguas residuales y pulpa inutilizable, representan más del 40% del total de alimentos vegetales (Loizzo et al., 2019). Estos residuos contienen altas cantidades de humedad y cargas microbianas, por lo que se han identificado como un problema importante a nivel mundial debido a que causan un impacto ambiental dañino (Gullón et al., 2020; Rico et al., 2020). De esta manera, teniendo en cuenta la preocupación por el mejoramiento de la sostenibilidad en la industria alimentaria y los problemas medioambientales que implica la gestión de estos residuos, existe en la actualidad, un interés creciente por la valorización de estos subproductos agroalimentarios, para la obtención de compuestos valiosos (Gullón et al., 2020). Gullón et al. 2020 y Loizzo et al. (2019) mencionan que estos subproductos suelen estar infravalorados a pesar de que varios estudios han sugerido que podrían ser una fuente notable de una amplia gama de compuestos bioactivos (como polifenoles, polisacáridos, pectina, antocianinas, quitina, queratina, péptidos, entre otros), los cuales han sido ampliamente estudiados por sus beneficios para la salud y propiedades antiinflamatorias, antimicrobianas, antioxidantes y anticancerígenas. En este contexto, los subproductos de la fruta presentan beneficios económicos para los productores y un impacto beneficioso al medio ambiente (da Silva et al., 2014). Por lo que podrían reutilizarse y tener su propio mercado, asumiendo un valor económico y científico en diversos sectores industriales, incluidos el alimentario, nutracéutico, farmacéutico y cosmético (Loizzo et al., 2019; Torres-León et al., 2018).

2.1.3 Subproductos de mango

El mango es una fruta de temporada, por esta razón se procesa en varios productos como pulpa, néctar de mango, entre otros. Las cáscaras y el hueso son considerados subproductos agroindustriales importantes que se obtienen en gran cantidad durante el procesamiento. Como la cáscara y el hueso no se utilizan actualmente para ningún propósito comercial, se desechan como un desperdicio y se convierten en una fuente de contaminación importante. Durante el crecimiento de la fruta se ha encontrado que los polifenoles totales son más altos en la cáscara que en la pulpa en todas las etapas, con un contenido total estimado de 4066 mg (EAG)/kg (materia seca). En general, las cáscaras maduras contienen polifenoles totales más altos que las cáscaras verdes (Ajila et al., 2007). Los constituyentes polifenólicos de la cáscara del mango incluyen mangiferina, quercetina, ramnetina, ácido elágico, kaempferol y sus conjugados relacionados como se muestra en la Tabla 2 (Jahurul et al., 2015; Masibo & He, 2008).

Tabla 2. Compuestos polifenólicos en cáscara de mango (mg/kg) en base seca.

Compuesto	Cantidad
Mangiferina	1690.4
Galato de mangiferina	321.9
Isomangiferina	134.5
Galato de isomangiferina	82.0
Quercetina-3-O-galactósido	651.2
Quercetina-3-O-glúcósido	557.7
Quercetina-3-O-xylosido	207.3
Quercetina-3-O-arabinopiranosido	101.5
Quercetina-3-O-arabinofuranosido	103.6
Quercetina-3-O-ramnósido	20.1
Kaempferol-3-O-glúcósido	36.1
Rhamnetina-3-O-galactosido/ glucósido	94.4
Quercetina	65.3
Fenoles totales	4066.0

(Jahurul et al., 2015; Masibo & He, 2008)

2.2 Carne y productos cárnicos

La carne se define como el tejido muscular de los animales de sacrificio (Shah et al., 2014), la cual es una fuente de alimento altamente nutritiva debido a que proporciona proteínas, lípidos, minerales, vitaminas y muchos otros micronutrientes de alta calidad (Morrissey et al., 2004; Shah et al., 2014). De acuerdo con los datos del Consejo Mexicano de la Carne (2017), en México, la carne más consumida anualmente es la de ave (pollo) con 32.3 kg/persona seguida de la carne de cerdo (porcino) con 19.2 kg/persona y la carne de res (bovino) con 15.4 kg/persona.

Por otra parte, los productos cárnicos son aquellos a los cuales se les realizan alteraciones estructurales con el apoyo de diversos procesos tecnológicos, con fines organolépticos y de conservación adicionando una gran diversidad de ingredientes (Jiang & Xiong, 2016). Las clasificaciones de los productos cárnicos son diversas y se basan en criterios tales como los tipos de materias primas que los componen, las estructuras de su masa, si están o no embutidos, si se someten o no a la acción del calor o algún otro proceso característico en su tecnología de elaboración, la forma del producto terminado, su durabilidad o cualquier otro criterio o nombres derivados de usos y costumbres tradicionales (Fornias & Díaz, 1999). De acuerdo con la Norma Oficial Mexicana, NOM-145-SSA1-1995 (Secretaría de Salud, 1995) los productos cárnicos se pueden clasificar como: productos curados y madurados, troceados y curados y frescos. En México, se ofrecen diversos productos

procesados entre los que destacan principalmente la venta de carne molida de res y de cerdo (Braña et al., 2012).

La carne y los productos cárnicos son susceptibles al deterioro de la calidad debido a su rica composición nutricional (Shah et al., 2014). Por lo tanto, una carne de buena calidad, que sea refrigerada sin empacar (expuesta en condiciones atmosféricas), tendría una vida de anaquel de 5 a 7 días. Cabe señalar que la vida de anaquel es el período en el que un alimento almacenado o bajo condiciones óptimas preestablecidas, mantiene características sensoriales y de seguridad aceptables. Cuando el consumidor rechaza el producto, es porque las características organolépticas del alimento lo hacen inaceptable o pone en riesgo su salud (Braña et al., 2012).

2.2.1 Carne molida

La carne molida es el producto obtenido de la carne fresca de animales para abasto, que es cortada y pasada por un molino o picadora, para su venta al público (Secretaría de salud, 2004). Este producto cárnico, se exhibe como venta al detalle. Por el proceso de picado suele oxidarse más rápido que los productos cárnicos de músculo entero, debido a que el área de la superficie de la carne en contacto con el oxígeno se incrementa sustancialmente, causando una decoloración con tonalidad marrón, lo que provoca rechazo por parte del consumidor (Sánchez-Escalante et al., 2003; Tapp et al., 2012; Turgut, et al., 2016). Así mismo, por su alto contenido y disponibilidad de nutrientes y humedad es más susceptible a las reacciones de alteración debido a que el proceso de molienda facilita el ingreso de microorganismos (Braña et al., 2012; Ponce et al., 2013).

Si a la carne molida se añaden cereales, grasa, sal, condimentos, conservantes, entre otros pasa a ser un preparado cárnico fresco. Aquí encontramos las albóndigas, la pilota de la escudella y carne para hamburguesas. La carne para hamburguesa es el producto cárnico más popular, consumido por millones de personas de todo el mundo. Los procesos comunes (como el picado, la cocción y la adición de sal) aplicados en la producción de carne para hamburguesas, favorecen la formación de especies reactivas de oxígeno; por lo tanto, el producto resultante es altamente vulnerable a la oxidación (Hashemi et al., 2017).

2.3 Oxidación lipídica en carne

En los alimentos, la oxidación lipídica es un fenómeno complejo inducido por el oxígeno, en presencia de iniciadores tales como el calor, radicales libres, luz, pigmentos fotosensibles y iones metálicos. La oxidación puede ocurrir por diferentes rutas: 1) autooxidación mediada

por radicales libres, 2) fotooxidación, 3) oxidación enzimática y 4) oxidación térmica (Shahidi, 2016).

2.3.1 Mecanismo oxidativo en carne y productos cárnicos

En el caso de la carne, después del sacrificio, los lípidos tienden a oxidarse vía mecanismos no enzimáticos, aunque el oxígeno singlete (O_2) podría proveer una ruta alternativa. Los radicales libres suelen ser los iniciadores de reacciones de cadena oxidativa asociadas con la integración de oxígeno, siendo los lípidos, pigmentos, proteínas y vitaminas, los principales objetivos en los productos cárnicos (Ribeiro et al., 2019). La peroxidación lipídica no enzimática también referida como “autooxidación” es una reacción en cadena de radicales libres la cual consiste en tres pasos principales: iniciación, propagación y terminación (Laguerre et al., 2007; Villalobos-Delgado et al., 2019).

Iniciación

El inicio de la reacción se da por la alta reactividad de los radicales libres (X^\bullet) los cuales forman más radicales libres por la sustracción de un átomo de hidrógeno (H) de una cadena de ácido graso poliinsaturado:



Donde:

X^\bullet : Factor de iniciación (OH, O_2 , otros)

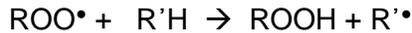
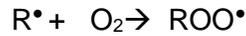
R^\bullet : radical libre

RH: cadena de ácido graso poliinsaturado

Al principio, la oxidación lipídica es una reacción muy lenta debido a la baja concentración de radicales libres. El arranque del átomo de hidrógeno es poco probable por la elevada energía de activación que requiere la reacción. Sin embargo, se facilita con la presencia de iniciadores.

Propagación

Los radicales libres de ácidos grasos poliinsaturados formados reaccionan con el oxígeno triplete (3O_2) disuelto en la fase lipídica o atmosférica tras su difusión. La interacción conduce a la formación de un radical peróxilo (ROO^\bullet). Este último estabiliza su estructura por sustracción de un átomo de hidrógeno de otra cadena de ácido graso poliinsaturado ($R'H$), el radical libre del ácido graso formado (R'^\bullet) puede continuar la reacción siguiendo el mismo principio.



Donde:

R[•]: radical de ácido graso poliinsaturado

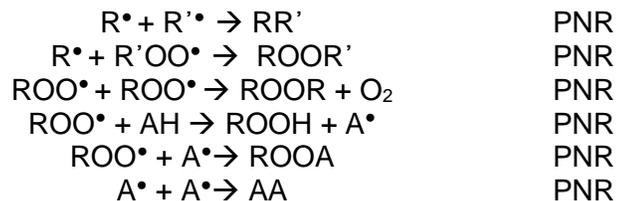
ROO[•]: peróxilo

ROOH: hidroperóxido

Durante la propagación un solo radical libre de ácido graso puede iniciar la formación de muchas moléculas de hidroperóxido (ROOH) (producto de oxidación primaria) 1000 o más por minuto. La cantidad de hidroperóxidos generados se corresponde con la cantidad de oxígeno consumido durante la oxidación de las cadenas de los ácidos grasos poliinsaturados. Los hidroperóxidos que son identificados como los productos primarios de la autooxidación de los lípidos son inodoros e insípidos. Sin embargo, estos productos de reacción según el mecanismo explicado anteriormente conducen a la formación de complejas mezclas de compuestos de bajo peso molecular, conocidos como productos secundarios de la oxidación lipídica que causan rancidez y sabores extraños.

Terminación

Cuando la concentración de radicales libre no es suficientemente importante, se dan combinaciones de estos últimos para finalizar la reacción de autooxidación y formar un producto no radical estable (Ribeiro et al., 2019), o bien, la reacción de propagación es terminada por la presencia de un hidrógeno o un donador de electrones (antioxidantes) (Erickson, 2002; Jeantet et al., 2010; Kubow, 1992; Reische et al, 2002).



Donde:

AH: Antioxidante

PNR: Producto no radical

2.4 Oxidación de la mioglobina

La mioglobina es una proteína hemo globular que se encuentra en el músculo de los animales, la cual es un importante contribuyente en el color de la carne (Chaijan, 2008). Su estructura está conformada por una única cadena polipeptídica, globina, que consta de 153 aminoácidos y un grupo hemo prostético; un complejo de hierro (II) protoporfirina-IX (Voet

et al., 2007). Este grupo hemo le proporciona a la mioglobina y sus derivados su color distintivo (Chaijan, 2008). Cabe mencionar, que es la principal proteína responsable del color de la carne, aunque otras proteínas hemo, como la hemoglobina y el citocromo C, también pueden jugar un papel importante en el color de la carne de res, cordero, cerdo y aves (Mancini & Hunt, 2005).

Los principales estados químicos de la mioglobina en una superficie de carne fresca son (Figura 2): la desoximioglobina o mioglobina (MB; color rojo púrpura), la oximioglobina unida con una molécula de oxígeno (MbO; color rojo vivo asociado con la frescura de la carne) y la metamioglobina reducida de color marrón (MetB), la cual se utiliza como un parámetro para medir la calidad de la carne (Aaslyng, 2002; Braña et al., 2011; López et al., 2013).

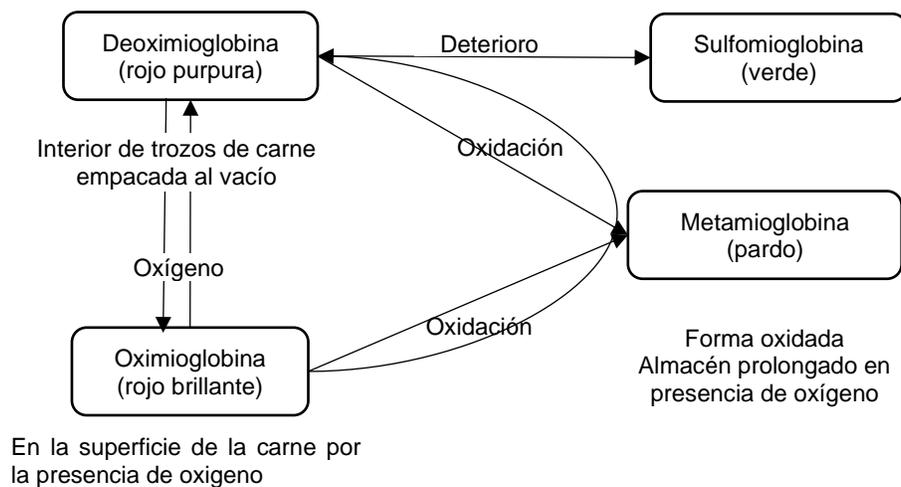
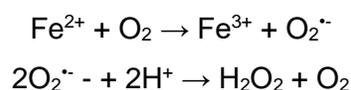


Figura 2. Mecanismo oxidativo de la mioglobina. (Ponce et al., 2013)

2.4.1 Mecanismo oxidativo de la mioglobina

La oxidación de la oximioglobina ferrosa (Fe^{2+}) a metamioglobina férrica (Fe^{3+}) es responsable de la decoloración de la carne durante el almacenamiento. El hierro ferroso (Fe^{2+}) puede reaccionar con el oxígeno molecular para producir aniones superóxido (O_2^-) con oxidación concomitante al hierro férrico (Fe^{3+}). El peróxido de hidrógeno (H_2O_2), que se puede producir mediante la disociación de O_2^- , puede reaccionar con Fe^{2+} para producir un radical hidroxilo (OH^\cdot). Esta reacción, denominada reacción de Fenton, es el principal mecanismo para la oxidación de la mioglobina (Chaijan, 2008).





La metamioglobina (Figura 3) es el pigmento indeseable más frecuente en la superficie de la carne: su color marrón es notable cuando alrededor del 60% de la mioglobina existe en esta forma (Lawrie & Ledward, 2014). Dicho color, se observa comúnmente durante la exhibición de la carne y no es atractivo para el ojo humano debido a que se asocia con el hecho de que la carne ya no está fresca (Feiner, 2006). La formación de metamioglobina en conjunto con la oxidación de lípidos puede inhibirse con la incorporación de antioxidantes ya sean sintéticos o naturales (Rodríguez-Carpena et al., 2011).

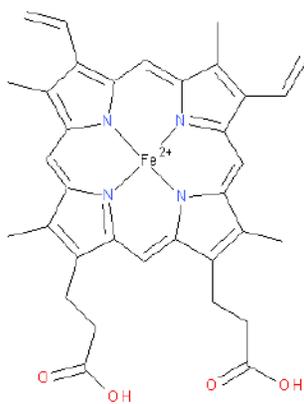


Figura 3. Estructura molecular de la metamioglobina (Rodwell & Kennelly, 2003)

2.5 Interrelación entre los diversos procesos oxidativos de la carne

Muchos estudios se han dirigido al establecimiento de las interacciones entre la oxidación lipídica, proteica y del pigmento del color, y aunque la relación no está del todo esclarecida, hay evidencias que muestran que estos procesos oxidativos a menudo parecen estar vinculados y la oxidación de uno de estos procesos conduce a la formación de especies químicas que pueden agravar la oxidación de la otra (Villalobos-Delgado et al., 2019; Zhang et al., 2013).

Chaijan (2008) y Ribeiro et al. (2019) reportan que, la lipoperoxidación en carne y derivados cárnicos está influenciada por varios factores, como la composición de los ácidos grasos, y los agentes prooxidantes como pigmentos hemo, especialmente la mioglobina y el hierro libre que se encuentran en el tejido muscular de las carnes rojas. Chaijan (2008), refiere que la oxidación de lípidos en carne fresca es influenciada por la oxidación de la oximioglobina, ya que la oxidación de ésta da como resultado la producción de dos

especies conocidas como prooxidantes: la metamioglobina y el H_2O_2 . Se ha propuesto que el O_2 y el H_2O_2 se producen durante la oxidación de la oximioglobina. El O_2 después puede reaccionar con H_2O_2 y Fe^{3+} a través de la reacción de Fenton para producir OH^\bullet y facilitar la oxidación de lípidos. Además, las especies reactivas de oxígeno, como el superóxido, el radical hidropéroxilo (HOO^\bullet) y el H_2O_2 , originados por la autooxidación de la oximioglobina, pueden causar daño a los lípidos musculares mediante una reacción de oxidación. Asimismo, algunos investigadores reportan dos mecanismos entre los procesos de oxidación de lípidos y la oxidación de mioglobina en la carne, (1) la oxidación concomitante de lípidos y mioglobina en la carne durante un período de tiempo y (2) la mediación por antioxidantes que son conocidos por inhibir la oxidación de lípidos pero que también retrasa la decoloración (Faustman et al., 2010).

Al mismo tiempo, la oxidación lipídica, se ve afectada por el grado de insaturación de los ácidos grasos en las fracciones de fosfolípidos y triglicéridos, generando productos reactivos secundarios, tales como los aldehídos y cetonas de cadena corta causantes de sabores indeseables en productos cárnicos (Nikmaram et al., 2018). Concretamente los aldehídos, afectan la estabilidad de la mioglobina causando un incremento en la oxidación del grupo hemo y pérdida del color (formación de metamioglobina) (AMSA, 2012), mediante la unión covalente de los aldehídos con la mioglobina (Suman & Joseph, 2014).

2.6 Sustancias que inhiben la oxidación: Antioxidantes

El término “antioxidante” se atribuye generalmente a toda sustancia que hallándose presente a bajas concentraciones, con respecto a las de un sustrato oxidable, retarda o previene la oxidación de dicho sustrato (Armenteros et al., 2012). Brewer (2011) reporta que los antioxidantes son compuestos que retardan la autooxidación al inhibir la formación de radicales libres o por interrumpir la propagación del radical libre por uno o más mecanismos:

- Secuestrando especies que inician la peroxidación
- Quelación de los iones metálicos de manera que son incapaces de generar especies reactivas o descomponer los peróxidos lipídicos
- Extinguiendo el oxígeno (O_2) para prevenir la formación de peróxidos
- Rompiendo la reacción en cadena autooxidativa
- Reduciendo las concentraciones localizadas de O_2

Las características a considerar para su uso en el procesamiento de alimentos son las siguientes: deben ser económicos, estables, no tóxicos, efectivos a bajas concentraciones

y ser capaces de resistir al procesamiento (efecto de transferencia). Asimismo, su color, sabor y olor deben ser mínimos. La elección de qué antioxidante usar depende de la compatibilidad del producto y las pautas reglamentarias (Allen & Cornforth, 2010).

2.6.1 Clasificación de los antioxidantes

Los antioxidantes pueden clasificarse generalmente en dos grupos:

- a) Tipo I, primarios o antioxidantes que rompen la cadena, tales como, la vitamina E y el butilhidroxitolueno (BHT), los cuales son aceptores de radicales libres que retrasan o inhiben la etapa de iniciación o interrumpen la etapa de propagación de la autooxidación, previniendo la formación de radicales lipídicos adicionales (Allen & Cornforth, 2010; Reische et al., 2002).
- b) Tipo II, secundarios o preventivos: tales como el ácido etilendiaminotetracético (EDTA) y el tripolifosfato de sodio (STPP), los cuales limitan el inicio de la oxidación de los lípidos al unir metales como el hierro y el cobre, estabilizándose en una forma inactiva o insoluble (Allen & Cornforth, 2010). Cabe señalar que estos antioxidantes reducen la velocidad de oxidación mediante varias acciones diferentes, pero no convierten los radicales libres en productos más estables. Pueden reincorporar hidrógenos a los antioxidantes primarios, descomponer hidroperóxidos a especies no radicalarias, desactivar el oxígeno singlete, absorber la radiación ultravioleta o actuar como secuestradores de oxígeno. Este tipo de antioxidantes son referidos como sinérgicos debido a que ellos promueven la actividad antioxidante de los antioxidantes tipo 1. El ácido cítrico, el ácido ascórbico, el palmitato de ascorbilo, la lecitina y el ácido tartárico son buenos ejemplos de sinergistas (Allen & Cornforth, 2010; Reische et al., 2002).

Los antioxidantes sintéticos aprobados para uso en alimentos incluyen BHA, BHT, PG, palmitato de ascorbilo y TBHQ. La síntesis de nuevos antioxidantes para uso alimentario está limitada por el aumento de los costos de investigación y desarrollo, los costos asociados con la evaluación de la seguridad y el tiempo requerido para obtener la aprobación reglamentaria de los aditivos. Estas restricciones, así como la creciente preferencia de los consumidores por los aditivos alimentarios naturales, han llevado a la industria a enfatizar los materiales naturales como una fuente de antioxidantes novedosos (Reische et al., 2002).

2.6.2 Usos de antioxidantes sintéticos en carne

Los antioxidantes se agregan a los productos cárnicos durante el procesamiento para retrasar la oxidación (Haak, et al., 2009). Los antioxidantes sintéticos, como butilhidroxianisol (BHA), butilhidroxitolueno (BHT), galato de propilo (PG) y butilhidroquinona terciaria (TBHQ), se han utilizado durante mucho tiempo para inhibir los cambios perjudiciales en la carne, inducidos por la oxidación (Haak, et al. 2009; Karre et al., 2013). Su mecanismo de acción consiste en reaccionar con los radicales libres y los iones metálicos quelantes, como el cobre y el hierro, que actúan como catalizadores del proceso de oxidación (Hygreeva et al., 2014; Jiang & Xiong, 2016). Sin embargo, estos antioxidantes se encuentran bajo escrutinio, debido a su potencial efecto genotóxico como posibles causantes de cáncer (Can-Cauich et al., 2017; Jiang & Xiong, 2016). De acuerdo a la Norma Oficial Mexicana, NOM-213-SSA1-2002 (Secretaría de Salud, 2002), la concentración máxima permitida en productos cárnicos de antioxidantes tales como BHT, BHA y TBHQ se observa en la Tabla 3.

Tabla 3. Límites máximos de antioxidantes sintéticos en productos cárnicos (mg/kg).

Antioxidante	Cocidos	Curados crudos	Curados madurados	Empanados rebozados congelados	o Desecados, marinados o en salmuera	secos, o en
BHT	100	N.P.	100	N.P.		100
BHA	100	N.P.	100	N.P.		100
TBHQ	100	N.P.	100	N.P.		100

N.P.: No permitido
(Secretaría de Salud, 2002)

Por su parte, Allen & Cornforth (2010) reportan que, el color de la carne se puede conservar debido a la capacidad de los antioxidantes de Tipo I; para limitar la oxidación de los lípidos, lo que evita la formación posterior de aldehídos reactivos. Varios estudios han examinado el efecto de los antioxidantes Tipo I en la pérdida de color en las carnes con diversos grados de éxito. También se ha demostrado que los antioxidantes de Tipo II conservan el color de la carne roja, presumiblemente al limitar la oxidación de lípidos catalizados por hierro.

2.6.3 Uso de antioxidantes naturales en carne

En comparación con los antioxidantes sintéticos, los antioxidantes naturales son de gran interés debido a sus características de seguridad y salud. Los extractos de materiales vegetales, como frutas, verduras, plantas, especias y sus componentes, así como semillas oleaginosas, son buenas fuentes de antioxidantes naturales (Armenteros et al., 2012; Jia et

al., 2012). En particular, como parte importante de los antioxidantes naturales, los compuestos polifenólicos tales como flavonoides, ácidos fenólicos, carotenoides y tocoferoles, han recibido mucha atención debido a su modo de acción, ya que pueden inhibir la oxidación inducida por Fe^{3+} , secuestrar radicales libres y actuar como reductores (Brewer, 2011). Así mismo, muchos extractos de origen vegetal, así como sus subproductos, son ricos en compuestos fenólicos los cuales han sido reportados por tener efectos positivos sobre la inhibición de la oxidación de lípidos y/o proteínas en diversos sistemas de carne (Can-Cauich et al., 2017; Falowo et al., 2014; Hygreeva et al., 2014; Jia et al., 2012; Karre et al., 2013; Shah et al., 2014; Villalobos-Delgado et al., 2019).

De tal manera que diversas investigaciones han demostrado que el uso de antioxidantes naturales como ingredientes, solos o en combinación, pueden ayudar a:

- Reducir el estado oxidativo de los derivados de la carne durante el procesamiento o almacenamiento, por ejemplo: la oxidación lipídica, oxidación proteica o decoloración.
- Mejorar la capacidad antioxidante de carne o productos/preparaciones cárnicas.
- Disminuir los niveles de radicales libres en carne o productos cárnicos (Villalobos-Delgado et al., 2019).

2.7 Compuestos polifenólicos

Se tiene el conocimiento que los compuestos fenólicos tienen múltiples efectos biológicos y actividad antioxidante. Se encuentran ampliamente distribuidos en fuentes vegetales comestibles (frutas, verduras, cereales, legumbres) y no comestibles (hojas, corteza, flores de las plantas) (Heim et al., 2002; Lizárraga & Hernández, 2018). Los extractos provenientes de frutas, plantas, vegetales, cereales y subproductos agroindustriales de éstos, ricos en compuestos fenólicos, son cada vez más interesantes en la industria alimentaria por retardar la degradación oxidativa de los lípidos, mejorar la calidad y el valor nutricional de los alimentos (Cvejić et al., 2017; Kähkönen et al., 1999; Prior et al., 1998). Los polifenoles poseen estructuras con anillos aromáticos que llevan uno o más grupos hidroxilo y sus estructuras pueden variar desde una molécula fenólica simple hasta la de un polímero complejo de masa molecular alta (Arranz-Martínez, 2010; Ignat et al., 2011). También pueden aparecer en formas conjugadas (glicósidos) con uno o más restos de azúcares unidos a grupos hidroxilo (O-glucósido) o directamente al anillo aromático (C-glucósido) (Manach & Donovan., 2004; Yang et al., 2018).

2.7.1 Capacidad antioxidante de los polifenoles

La capacidad antioxidante de los compuestos polifenólicos depende de las propiedades redox de sus grupos hidroxilo fenólicos y de las relaciones estructurales entre las diferentes partes de las estructuras químicas (Rice-Evans & Miller, 1996). Dichas relaciones estructurales actúan mediante un mecanismo de eliminación de radicales libres, neutralización de lípidos, neutralización o eliminación de especies reactivas al oxígeno (ROS) capturando electrones desapareados de las ROS y a través de su capacidad de quelar iones metálicos (hierro y cobre) (Armenteros et al., 2012; Cvejić et al., 2017; Fernández-López et al., 2005; Lizárraga-Velázquez et al., 2018). Además, estos compuestos pueden inhibir a nivel biológico, enzimas generadoras de ROS, como la xantina oxidasa y nicotinamida-adenina dinucleótido fosfato (NADPH) oxidasa (Quiñones et al., 2012). Ajila et al. (2007) mencionan que los compuestos fenólicos presentes en la cáscara del mango son buenos donantes de electrones y podrían reducir el complejo Fe^{3+} /ferrocianuro a forma ferrosa, lo que indica la actividad antioxidante.

2.7.2 Actividad antimicrobiana de los polifenoles

De acuerdo con su estructura química, los polifenoles de bajo peso molecular se encuentran entre los componentes más comunes de los extractos de plantas con actividad antimicrobiana (Villalobos-Delgado et al., 2019). Entre los mecanismos de la capacidad antimicrobiana de los polifenoles se encuentran: la desestabilización de la membrana citoplasmática, permeabilización de la membrana celular, privación de micronutrientes minerales esenciales tales como el hierro y el zinc mediante quelación e inhibición de enzimas microbianas extracelulares, así como interferencia directa en el metabolismo microbiano (Siller-Sánchez et al., 2013; Villalobos-Delgado et al., 2019).

2.7.3 Clasificación de compuestos polifenólicos

Los polifenoles se dividen en varias clases según su estructura básica que contienen y los elementos estructurales que los unen entre sí. Los principales grupos de polifenoles se muestran en la Figura 4 y se clasifican de la siguiente manera: flavonoides, ácidos fenólicos entre otros compuestos como taninos, estilbenos y lignanos (Cvejić et al., 2017; Heim et al., 2002; Ignat et al., 2011; Oroian & Escriche, 2015; Rice-Evans & Miller, 1996).

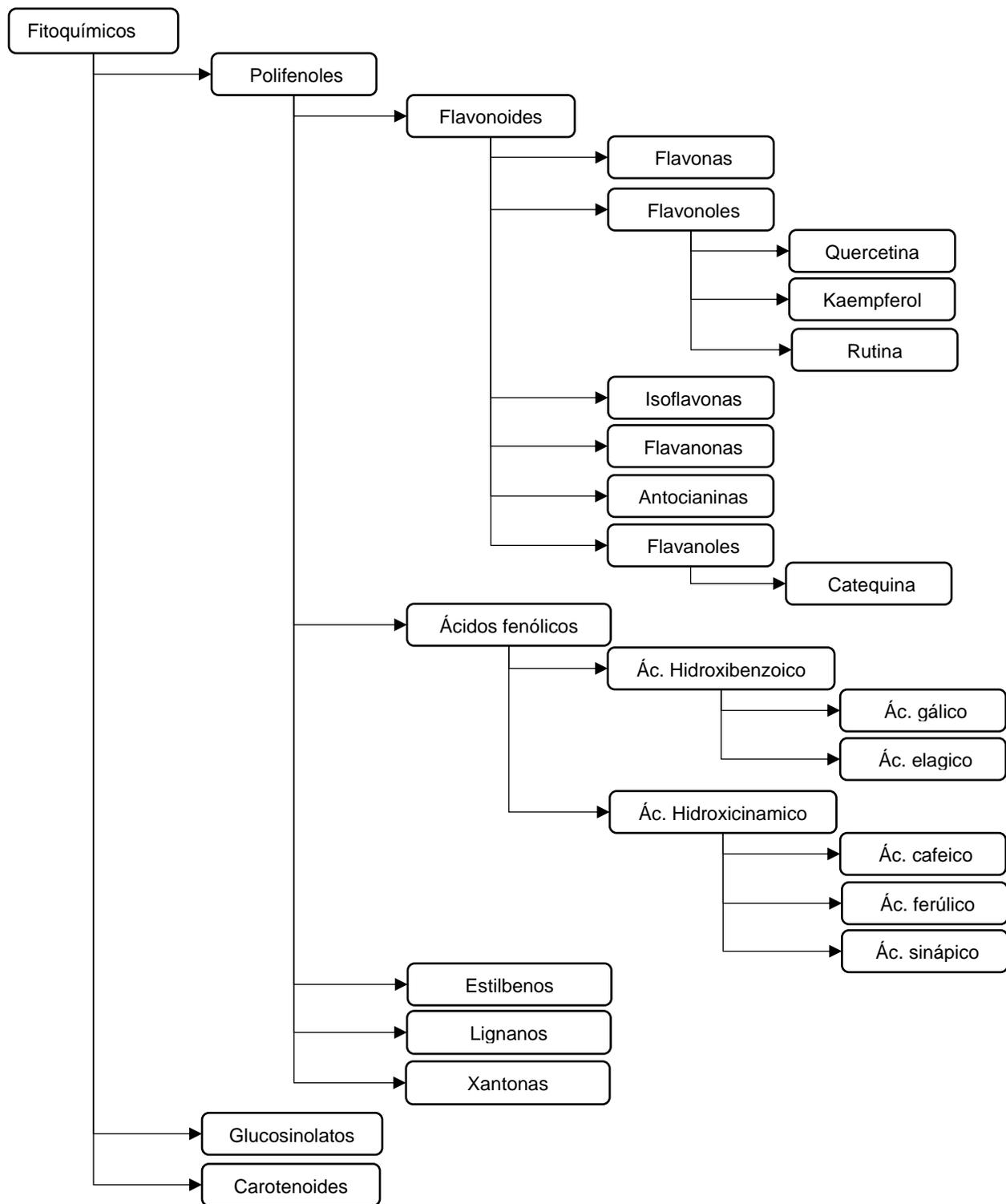


Figura 4. Clasificación de compuestos polifenólicos.
 (Blasa et al., 2010; Gnanavinthan, 2013; Peñarrieta et al., 2014).

Uno de los principales polifenoles presente en la fruta de mango (cáscara, hojas, semilla, etc.) es la mangiferina (Imran et al., 2017; Hoyos-Arbeláez et al., 2018).

- **Mangiferina:**

También llamada C-Glucosilxantona. La mangiferina $C_{19}H_{18}O_{11}$ (1,3,6,7-tetrahydroxyxantona-C2- β -D-glucósido), ha sido identificada químicamente como un C-glicósido estable del grupo de las xantonas. Muestra propiedades antioxidantes, antimicrobianas, antitumorales y antivirales (Forero & Pulido, 2016; Imran et al., 2017; Jutiviboonsuk & Sardsaengjun, 2010; Kulkarni & Rathod, 2014). Se cree que la actividad antioxidante de la mangiferina supera a la de las vitaminas C y E (Masibo & He, 2008). La isomangiferina y la homomangiferina evitan la producción de radical hidroxilo debido a su capacidad de quelación de hierro en las reacciones de tipo Fenton (Imran et al., 2017).

2.7.3.1 Flavonoides

Son los polifenoles más abundantes en la naturaleza (Murphy et al., 2019; Oroian & Escrich, 2015). Exhiben propiedades biológicas como anticancerígenos, antioxidantes, antiinflamatorios, entre otros (Hamed et al., 2019). Los flavonoides se encuentran ampliamente distribuidos en frutas, verduras, extractos de plantas, así como en bebidas de origen vegetal como el té y el vino tinto (Mira et al., 2002). Estos compuestos presentan bajo peso molecular con una estructura general que incluye un esqueleto C₁₅ (C₆-C₃-C₆) (Figura 5) (Oroian & Escriche, 2015; Barberán, 2003; Yang et al., 2018). La propiedad antioxidante de los flavonoides se atribuye a: la capacidad para quelar iones de Fe y Cu, a los efectos sinérgicos que presenta con otros antioxidantes y la inhibición o eliminación de radicales libres de los grupos hidroxilo fenólicos unidos a las estructuras del anillo (Agati et al., 2012; Heim et al., 2002; Rice-Evans & Miller, 1996; Mira et al., 2002). La actividad antimicrobiana puede estar influida por el sinergismo de los compuestos o al pH que presentan los extractos (Escalona, 2012).

Se pueden dividir en varias clases según el grado de oxidación del heterociclo de oxígeno: flavonas, isoflavonas, flavononas, flavonoles, flavanoles, antocianinas y proantocianidinas (Masibo & He, 2008; Murphy et al., 2019; Oroian & Escriche, 2015; Reische et al., 2002). Los flavonoides más representativos de la cáscara de mango son: la quercetina y el kaempferol (Venegas Casanova, 2012).

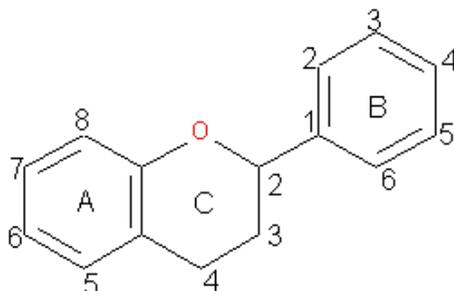


Figura 5. Estructura básica de un flavonoide.
(Martínez-Flórez et al., 2002)

- Quercetina

La quercetina es uno de los pigmentos que proporcionan color a muchas frutas, como el mango. A menudo se producen en las plantas como glucósidos, como la rutina (quercetina rutinósido) (Masibo & He, 2008). Las propiedades beneficiosas de la quercetina se relacionan estrechamente con su estructura química, puede contener un número variable de grupos hidroxilo fenólicos, que actúan como protectores de especies reactivas de oxígeno, mediante la neutralización de radicales libres como aniones superóxido, óxido nítrico y peroxinitritos entre otros, y por sus excelentes propiedades de quelación del hierro y otros metales de transición lo que le confiere una gran capacidad antioxidante (Martínez-Flórez et al., 2002; Siller-Sánchez et al., 2013; Vicente-Vicente et al., 2013). La quercetina es uno de los flavonoides con mayor actividad neutralizadora de radicales libres (Quiñones et al., 2012).

- Kaempferol

El Kaempferol en su estructura tiene principalmente difenilpropano, que es responsable de su hidrofobicidad (Lescano et al., 2019). Contiene grupos hidroxilo en C3, C5 y C4, un grupo oxo en C4 y un doble enlace en C2-C3, transformando la molécula en un potente antioxidante (Imran et al., 2019; Ribeiro & Schieber, 2010) al igual que la quercetina. Se describe que el kaempferol y sus glucósidos tienen una excelente capacidad antioxidante y pueden disminuir la producción de radicales libres, H_2O_2 , HOCl y es un potente eliminador de superóxido y óxido nítrico en ensayos *in vitro*, inhibe las enzimas prooxidantes, como la xantina oxidasa, y activa enzimas antioxidantes como la superóxido dismutasa, la catalasa y la hemo oxigenasa e incluso evita la generación de radicales hidroxilo por quelación cuprosa o ferrosa (Imran et al., 2019; Lescano et al., 2019). Ya se han sugerido asociaciones entre la ingesta de kaempferol y la reducción de los factores de riesgo de enfermedades crónicas. Dentro de sus actividades biológicas, se incluyen los efectos

antimicrobianos, antitrombóticos, vasodilatadores, antiinflamatorios y anticancerígenos mediados por diferentes mecanismos (Ribeiro & Schieber, 2010).

2.7.3.2 Ácidos fenólicos

Son incoloros, inodoros e insípidos, aunque con el tiempo y la oxidación puede tornarse de color amarillo, también, bajo la acción de algunos microorganismos, pueden transformarse en fenoles volátiles, que presentan olores muy característicos. Se caracterizan por la presencia de un solo anillo bencénico en su molécula. Se clasifican en: ácido benzoico y ácido cinámico. La actividad antioxidante de los ácidos fenólicos y sus ésteres depende del número de grupos hidroxilo en la molécula. Los ácidos cinámicos hidroxilados son más efectivos que sus contrapartes benzoicas. Las concentraciones típicamente disminuyen durante el proceso de maduración de la fruta (Blasa et al., 2010; Gnanavinthan, 2013). Los ácidos fenólicos tienen actividad antioxidante como quelantes y son captadores de radicales libres con un impacto especial en los radicales hidroxilos y peroxilos, aniones superóxido y peroxinitritas (Mojzer et al., 2016).

2.8 Métodos de extracción de compuestos polifenoles de residuos sólidos

La extracción es el primer paso importante en el aislamiento y purificación de componentes bioactivos del material vegetal (Ćujić et al., 2016). La extracción se puede definir como la separación selectiva de uno o más analitos entre dos fases que no interfieren entre sí. Para extraer secuencialmente los componentes de un tejido vegetal se pone en contacto un material molido deshidratado con el disolvente de extracción por difusión. El tipo de compuestos orgánicos a extraer dependerá fundamentalmente de la polaridad del disolvente y la afinidad del analito por el solvente de extracción debe ser mayor que su afinidad por la matriz de la muestra (Tomaz et al., 2019). Dentro de los disolventes se pueden considerar n-hexano, tolueno, acetona, etanol, metanol, agua, entre otros (Brewer, 2011). Otro factor a considerar es el tamaño de partícula y la presencia de sustancias interferentes. El tiempo de extracción, la temperatura, la relación de disolvente y muestra, el número de extracciones repetidas de la muestra, así como la elección de los disolventes de extracción son las variables cruciales que afectan el rendimiento de la extracción (Mojzer et al., 2016; Tomaz et al., 2019). Finalmente, la fase de extracción (que contiene el analito) debe difundirse a través de la muestra, separándose en una fase distinta, que luego se elimina de la matriz insoluble de la muestra sólida mediante centrifugación o filtración (Tomaz et al., 2019). Se pueden aplicar varias técnicas de extracción para la

recuperación de polifenoles de las plantas, y en general estas técnicas se pueden dividir en convencionales y modernas (Ćujić et al., 2016).

2.8.1 Técnicas convencionales

Las técnicas convencionales para extraer compuestos bioactivos han sido ampliamente aceptadas, principalmente debido a su facilidad de uso, eficiencia y amplia aplicabilidad. La extracción convencional se lleva a cabo típicamente a temperaturas que oscilan entre 20 °C y 50 °C. Las temperaturas superiores a 70 °C no son deseadas y conducen a una rápida degradación de antocianinas, compuestos polifenólicos, entre otros. Los tiempos largos de extracción son otro problema que enfrentan los procedimientos de extracción convencionales (Guandalini et al., 2019; Mojzer et al., 2016). Los métodos de extracción convencionales incluyen maceración, maceración asistida con agitación y extracción Soxhlet. La eficiencia de la extracción está influenciada por varios factores, como el tipo y la concentración del solvente, cambios en el gradiente de concentración, el tiempo, la temperatura, el pH, coeficiente de difusión, tamaño de la partícula, etc. (Brewer 2011; Ćujić et al., 2016; Tomaz et al., 2019). Los compuestos polifenólicos tienen una estabilidad térmica limitada y, por lo tanto, un incremento de la temperatura no puede ser definitivo. Se considera que la temperatura para la extracción de los compuestos fenólicos no debe ser superior a 60 °C. Por otra parte, el tamaño de partícula tiene un efecto significativo en la eficiencia de extracción. Las partículas más pequeñas reducen la distancia de difusión de los sólidos, aumentando así el gradiente de concentración (Tomaz, et al., 2019).

Kabir et al. (2017) reportó variaciones en los compuestos presentes en la cáscara de tres variedades de mango (Keitt, Sensation y Gomera 3) extraídos con diferentes solventes y diferentes temperaturas, en los cuales se identificaron 30 compuestos que pertenecen a 5 Familias Fenólicas (Tabla 4).

Tabla 4. Compuestos presentes en extractos de cáscara de mango obtenidos con diferentes disolventes y temperaturas (mg/100 g, base seca).

Temperatura de extracción	Solvente de extracción	de	Flavonoides totales	Taninos	Proantocianidinas
25 °C	Metanol		700	9,400	580
	Etanol		500	6,000	320
	Acetona		550	1,100	200
	Agua		180	3,400	240
	Metanol: Agua (1:1)		340	4,100	230
	Etanol: Agua (1:1)		340	8,100	300
	Acetona: Agua (1:1)		430	7,100	380
50 °C	Metanol		380	7,700	540
	Etanol		420	6,000	310
	Acetona		490	2,700	250
	Agua		170	3,800	120
	Metanol: Agua (1:1)		340	6,000	180
	Etanol: Agua (1:1)		380	7,400	310
	Acetona: Agua (1:1)		540	10,000	430
75 °C	Metanol		370	7,800	540
	Etanol		530	7,500	430
	Acetona		510	3,300	270
	Agua		170	2,100	220
	Metanol: Agua (1:1)		390	5,700	320
	Etanol: Agua (1:1)		250	8,000	280
	Acetona: Agua (1:1)		560	11,000	520

(Kabir et al., 2017).

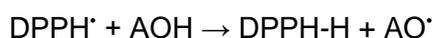
2.9 Actividad antioxidante

La actividad antioxidante representa la capacidad de inhibir el proceso de oxidación. La mayoría de los métodos para la determinación de la actividad antioxidante, caracterizan la capacidad del compuesto o producto probado para eliminar los radicales libres y/o los iones metálicos complejos que impulsan el proceso de oxidación (Tirzitis & Bartosz, 2010). Los radicales son moléculas o fragmentos de moléculas caracterizadas por tener uno o más electrones desapareados en su orbital externo, condición que los torna altamente reactivos (Guija-Poma et al., 2015). Los ensayos de capacidad antioxidante más comúnmente utilizados incluyen la capacidad de absorción de radicales de oxígeno (ORAC), el poder reductor, la determinación de fenoles totales, el ácido 2,2-azino-di- (ácido 3-etilbenzotiazolina-sulfónico) (ensayo ABTS), el 2,2-difenil-2-picrilhidrazilo (ensayo DPPH), actividad del secuestrante de los radicales hidroxilos, actividad eliminadora de radicales superóxido e inhibición de la peroxidación de lípidos (Ma et al., 2011). La actividad antioxidante puede, entre otros factores, depender del tipo (posición y número de hidroxilos

en la molécula) y concentración de compuestos fenólicos, y de la presencia de metales de transición (Monreal et al., 2012).

El DPPH^{*} (2,2-difenil-2-picrilhidrazilo) es un radical libre estable (Tirzitis, & Bartosz, 2010). Es susceptible de reaccionar con compuestos antioxidantes a través de un proceso caracterizado por la cesión de un átomo de hidrógeno proporcionado por el agente antioxidante (Guija-Poma et al., 2015). Este método determina la actividad de captura de material radicalario, en presencia de una sustancia antioxidante, midiendo el potencial de inactivación de dicho radical en medio acuoso (Monreal et al., 2012). Al aceptar el hidrógeno de un donante correspondiente, sus soluciones pierden el color característico de color morado oscuro (λ_{max} 515–517 nm) (Tirzitis & Bartosz, 2010).

El mecanismo de reacción descrito previamente se representa de la siguiente manera (Guija-Poma et al., 2015).



Donde:

DPPH^{*}: solución del radical de DPPH^{*}

AOH: antioxidante

DPPH-H: Producto no reactivo

2.10 Métodos de evaluación para la oxidación lipídica y proteica de la carne

2.10.1 Sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS)

Los productos secundarios que se forman durante la oxidación suelen ser usados para la medición de la oxidación en los alimentos, debido a que los hidroperóxidos son transitorios, incoloros y sin sabor, mientras que los productos secundarios como las cetonas, los aldehídos, los hidrocarburos y alcoholes suelen ser bastante olorosos y forman productos finales estables; aunque volátiles. Así, los productos finales de los hidroperóxidos lipídicos son los productos secundarios tales como el hexanal, pentanal, 4-hidroxinonanal y el malondialdehído (MDA) (William, 2013). Este último es considerado como un agente carcinogénico y mutagénico (Villalobos-Delgado et al., 2019).

La cantidad de MDA ha sido comúnmente usada como un índice de oxidación en alimentos de origen muscular. Técnicas analíticas tales como la prueba del ácido tiobarbitúrico (TBARS), cromatografía de gases y HPLC pueden ser usadas para determinar y cuantificar el MDA (Villalobos-Delgado et al., 2019). Los TBARS o sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico es un método simple y rápido que se basa en la medición espectrofotométrica entre 532 y 537 nm de un cromóforo rojo formado por la reacción del TBA con productos

aldehídicos secundarios provenientes de la oxidación de los ácidos grasos insaturados y utilizando el malonaldehído (MDA) como un estándar para la calibración. Los resultados se expresan como el número TBA, que representa micromoles o miligramos de MDA presentes en 1 g de grasa o mg de MDA por kg de muestra o también como unidades de absorbancia por unidad de masa (Kubow, 1992; Venegas & Pérez, 2009).

2.10.2 Color instrumental

El color en la carne cruda es una combinación del contenido de mioglobina y el reflejo de la desnaturalización de la proteína. Se considera como un atributo importante de frescura y calidad en la carne cruda, ya que influye en la elección del consumidor; debido a que éste, asocia el color rojo cereza brillante (oximioglobina) con la frescura de la carne, la cual durante el almacenamiento decrece con la oxidación de la oximioglobina a metamioglobina (rojo marrón) generando rechazo por parte del consumidor (Aaslyng, 2002; Kanner, 1994; Morrissey & Kerry, 2004; Villalobos-Delgado et al., 2019). El color de la carne fresca puede ser determinada instrumentalmente o visualmente (Aaslyng, 2002). Así, el color de la carne y los productos cárnicos pueden ser medidos y representados usando el sistema CIE L^* , a^* , b^* . L^* se refiere a la luminosidad y se ubica verticalmente, tomando valores de 100 (blanco) y 0 (negro); mientras que a^* y b^* , ubicados horizontalmente, con un valor máximo de 60 tanto positivos como negativos. La escala de a^* se mueve de los valores positivos (rojo +) a los negativos (verde -); mientras que la escala de b^* va del amarillo (+) al azul (-) (Braña et al., 2012). Un incremento en el valor L^* ocurre cuando no solo hay menos mioglobina en la superficie, sino que también aumenta la dispersión de la luz, debido a la desnaturalización de las proteínas en la estructura de los músculos y un aumento en el valor de a^* se relaciona predominantemente con un aumento en la concentración de mioglobina en la superficie de la carne, especialmente la oximioglobina, Así mismo, grandes cocientes de a^*/b^* indican mayor enrojecimiento y menos decoloración (AMSA, 2012; Warner, 2014). Para representar los valores del color en términos de tonalidad y saturación se calcula el croma o saturación (C) y tono o Hue. El croma indica la intensidad del color y representa la distancia vectorial desde el centro del color espacial hasta el color medido. Mientras que el tono define el color, y también indica los cambios en el pigmento de la mioglobina de rojo a café y se expresa como un ángulo entre 0 y 360° (Araya-Quesada et al., 2014). Ambas variables se calculan a partir de los valores a^* y b^* de acuerdo a las siguientes ecuaciones (Araya-Quesada et al., 2014; Braña et al., 2012; de Jesús Ornelas-Paz et al., 2008; Warner, 2014):

$$H = \arctang (b^* / a^*)$$

$$C = \sqrt{(a^{*2} + b^{*2})}$$

2.10.3 Deterioro de la carne por microorganismos

Por su alto contenido de humedad y nutrientes la carne cruda es un alimento perecedero (Hygreeva et al., 2014), lo que causa que su vida útil sea limitada por el deterioro microbiano (Bañón et al., 2007). Las fuentes de contaminación más importantes son el proceso de faenado y la manipulación posterior de la carne (Braña et al., 2012). Cuando la carne es molida o triturada es más susceptible a reacciones de alteración, ya que, con estos procesos, el área de la superficie aumenta y las bacterias se propagan por toda la masa cárnica, provocando alteraciones y cambios de color (Ponce et al., 2013; Gill & Gill, 2010). Durante su almacenamiento, se utilizan temperaturas de refrigeración con la finalidad de retrasar su deterioro (Ercolini et al., 2009).

No obstante, existe un tipo de bacterias llamadas psicrótrofos que pueden crecer a temperaturas entre 0 a 7 °C. Estas bacterias pueden albergar dentro de los refrigeradores y, después de 7 a 10 días de almacenaje, son frecuentemente reportadas como las principales responsables de la pérdida de frescura de la carne (Ponce et al., 2013). La población microbiana de carne refrigerada está compuesta principalmente por *Pseudomonas* spp., *Enterobacteriaceae* tolerante al frío, bacterias ácido lácticas (LAB, como *Lactobacilli* spp., *Leuconostoc* spp., *Carnobacterium* spp, etc.), *Brochothrix thermosphacta* y *Clostridium* spp (Del Blanco et al., 2017). Especies de *Pseudomonas* están particularmente implicadas en la putrefacción de la carne almacenada a temperaturas de enfriamiento (Ercolini et al., 2009; Gill & Gill, 2010; James & James, 2002). Estos microorganismos estrictamente aeróbicos por su metabolismo proteolítico utilizan preferentemente la glucosa y reprimen enérgicamente su utilización de otros sustratos presentes en la carne hasta que la glucosa se encuentra disponible. Cuando la glucosa que se difunde desde el interior de la carne no puede satisfacer adecuadamente las necesidades de las bacterias en la superficie, comienzan a utilizar los aminoácidos. Los productos del metabolismo de la glucosa son inofensivos, pero la descomposición de los aminoácidos da lugar a la distribución de subproductos como el amoníaco, las aminas y los sulfuros orgánicos, que confieren olores y sabores desagradables a la carne cuando están presentes sólo en pequeñas cantidades (Gill & Gill, 2010).

Diferentes estudios han demostrado el uso de compuestos naturales, para la descontaminación de carne de res, cerdo y pollo. La presencia y el nivel de diferentes fitoquímicos, tales como ácidos fenólicos, flavonoides, alcaloides, saponinas, taninos, terpenos y, más específicamente, carvacrol y timol, presentan actividades antimicrobianas (Hygreeva et al., 2014; Shahidi, 2016).

3 ESTADO DEL ARTE

Se realizó una búsqueda de investigaciones relacionadas con el uso de extractos de cáscaras de mango como aditivo en carne y productos cárnicos, así como la caracterización química de la cáscara de mango, con el objetivo de emplearlas en diferentes alimentos. Encontrando lo siguiente:

Patiño-Rodríguez et al. (2020), realizaron un estudio en harina de cáscara de mango inmaduro de la variedad Ataúlfo, como fuente alternativa de polifenoles y fibra dietética. La cáscara fue sumergida en una solución de ácido cítrico al 0.3% p/v. Posteriormente, se llevó a sequedad, se molió y se tamizó, para obtener la harina de cáscara de mango. Los autores reportaron que el contenido de fibra dietética fue de 40.5 g/100g y el contenido de polifenoles totales fue de 16.51mg EAG/g materia seca, con una actividad antioxidante de 92.08 mg ET/g materia seca.

Por otra parte, Rivas-Robles et al. (2020) evaluaron el potencial de aprovechamiento de la variedad Ataúlfo, adquirida en el estado de Chiapas. Los autores determinaron sobre el fruto de mango, la firmeza (4.36 kg/cm²) y el peso de la cáscara (60.25 g), mientras que, en la cáscara determinaron el pH (4.67), los SST (24.64) y la acidez titulable (1.25). Finalmente, para el color, reportaron las variables de L^* (80.59), a^* (46.69) y b^* (111.18)

Así mismo, Alañón et al. (2019) realizaron un estudio de la composición química de la pulpa considerando tres variedades de mango (Keitt, Kent y Osteen), en cinco etapas de maduración. Utilizaron el método de HPLC-DAD-q-TOF-MS el cual identificó la presencia de más de setenta compuestos de diferentes familias químicas, las cuales fueron caracterizadas en función de su tiempo de retención relativo, sus espectros de UV-Vis y espectros de masas obtenidos usando q-TOF-MS. Entre las familias químicas, se identificaron ácidos orgánicos como el ácido quínico y el ácido cítrico. El ácido gálico y sus derivados fueron reconocidos como la familia más numerosa detectada. También se encontraron varios derivados de monogaloilo y digaloilo. Dentro de otros ácidos fenólicos detectados se encuentran los derivados de vainillico, ferúlico, sinápico y benzoico. Los mangos de la variedad Keitt exhibieron las mayores cantidades de galotaninos y especies mono y digalloil en las primeras etapas de maduración.

Autores como Mercado et al. (2018), evaluaron el contenido y bioaccesibilidad de los carotenoides en 4 bebidas a base de subproductos (cáscara y pasta) de mango 'Ataúlfo'. Elaboraron 4 bebidas: un control (BC) y tres utilizando la extracción asistida por ultrasonido (B-EAU1: X_{TE} : 30 min, X_{AS} : 30 %, X_C : 0.8; B-EAU2: X_{TE} : 15 min, X_{AS} : 70 %, X_C : 0.4; B-

EAU3: X_{TE} : 12 min, X_{AS} : 100 % y X_C : 1). Determinaron el perfil de los carotenoides por HPLC-DAD y la bioaccesibilidad. El contenido de los carotenoides osciló entre 0.01 a 3.29 $\mu\text{g}/100\text{ mL}$ en las bebidas de mango. La extracción asistida por ultrasonido (EAU) tuvo un efecto negativo sobre el contenido de β -criptoxantina, luteína, y β -caroteno en B-EAU2 y B-EAU3.

Cherdvorapong & Tongkhao (2017), evaluaron la actividad antibacteriana de extractos de cáscara y pulpa de mango verde y su aplicación en filete de pescado. El extracto de cáscara de mango verde se obtuvo a diferentes concentraciones de etanol (50%, 70%, 95% v/v). Se determinó que el contenido de ácido gálico y mangiferina fue mayor en el extracto de cáscara de mango verde al 70% (GMPE-70%) mediante HPLC. Este extracto se evaluó en filete de pescado no inoculado e inoculado en un porcentaje de 0%, 2%, 4% y 6% (v/p). El recuento total en placa se realizó para *S. aureus*, *S. Typhimurium* y *E. coli*. Los resultados de este trabajo indicaron que la aplicación del extracto al 6% (v/p) mostró la mayor actividad antibacteriana en filete de pescado almacenado en refrigeración durante 5 días, por lo que este extracto no solo posee compuestos bioactivos si no también actividad antimicrobiana y puede prolongar la vida de anaquel de los filetes de pescado.

Por otra parte, Gómez-Caravaca et al. (2016) determinaron los compuestos fenólicos libres y unidos en la fracción comestible del mango y sus subproductos (cáscara, semilla y cáscara de semilla) por HPLC-DAD-ESI-qTOF-MS. Los autores reportaron la identificación de 91 compuestos libres y 13 compuestos unidos, siendo la cáscara de mango la que presentó la mayor concentración de compuestos polares libres seguida de semilla, pulpa y cáscara de semilla. En la cáscara de mango reportan la identificación tentativa de 63 compuestos polares libres, pertenecientes a las siete familias de compuestos polifenólicos (ácidos orgánicos, galatos y galotaninos, flavonoides, xantonas, ácido elágico y derivados, derivados de benzofenona y otros derivados del ácido fenólico).

También autores como Palafox-Carlos et al. (2012) realizaron el análisis cualitativo y cuantitativo de los principales compuestos fenólicos encontrados en la pulpa de mango "Ataúlfo" en cuatro etapas de madurez. Utilizaron cromatografía líquida de alta eficiencia con detector de arreglo de diodos (HPLC-DAD). Los autores reportaron que el ácido clorogénico (28–301 mg/100 g ms) fue el más abundante, seguido del ácido gálico (94,6–98,7 mg/100 g ms), mientras que el ácido vainílico (16,9–24,4 mg/100 g ms) y ácido protocatecánico (0,48– 1.1 mg/100 g ms) fueron los ácidos con menos abundancia. La contribución antioxidante de los cuatro ácidos fenólicos aumentó durante la maduración.

Por otra parte, Ornelas-Paz et al. (2008) identificaron los carotenoides más importantes en el mesocarpio de los mangos "Ataúlfo" y "Manila", y cuantificaron la relación entre la concentración de carotenoides y los cambios de color del mesocarpio y la epidermis de la fruta durante la maduración de la fruta. La concentración de carotenoides aumentó durante la maduración de la fruta de manera exponencial para "Ataúlfo" y polinómica exponencial para "Manila".

Con respecto a la incorporación de las cáscaras de mango en diferentes alimentos, se tiene la siguiente información. Autores como Ramírez–Maganda et al. (2015) sustituyeron la harina de trigo y el azúcar de caña parcialmente (50 y 75%) por un subproducto de procesamiento de mango (MPB: cáscara de mango con pasta obtenida del concentrado del mango) como un ingrediente alimentario de valor agregado en alimentos. Estudiaron su análisis sensorial mediante una prueba de preferencia evaluando la aceptabilidad general. También se determinó su composición química, actividad antioxidante y propiedades de hidrólisis *in vitro* del almidón. El análisis sensorial mostró una diferencia significativa ($P<0.05$) entre el control y los muffins con 75% de nivel de MPB sustituido con la puntuación más alta. El análisis proximal reveló que los muffins sustituidos con MPB tenían un contenido significativamente mayor ($P<0.05$) de humedad, ceniza, fibra soluble, fibra insoluble y fibra total indigestible, pero menos carbohidratos solubles totales y contenido de almidón disponible que un muffin no sustituido (control). El contenido total de polifenoles solubles (TSP) aumentó aproximadamente tres veces (1.86 a 5.36 g EAG/100 g peso seco) con la sustitución de MPB. Los ácidos clorogénico, cafeico, gálico, hidroxicinámico y ferúlico se identificaron como principales.

Asimismo, en la literatura se han reportado diferentes investigaciones en las cuales se han utilizado diversos subproductos agroindustriales, que han sido propuestos como antioxidantes naturales para elaborar preparaciones de carne y productos cárnicos, tales como el uso de semillas, cáscaras y huesos de frutas y vegetales (aguacate, maní, palma de dátil, mandarinas, papa, uva, chícharos, garbanzos, etc) (Villalobos-Delgado et al., 2019). No obstante, a la fecha no existen investigaciones sobre el uso de extractos provenientes de cáscara de mango, incorporados como antioxidantes naturales en carne para hamburguesas de bovino.

4 JUSTIFICACIÓN

En México, los desechos o subproductos agrícolas (cáscaras, huesos, bagazo, frutas y vegetales dañados o con problemas de madurez y calidad) se producen en masa por la industria representando un grave problema de contaminación ambiental, ya que las autoridades no han desarrollado políticas adecuadas para su manejo y desecho de los residuos, siendo en la mayoría de las veces, arrojados a la basura (Sumaya-Martínez et al., 2012).

En el caso del mango, un porcentaje que varía del 35 al 60% del peso total del fruto corresponde a los subproductos (cáscara y hueso) de la transformación y son considerados como un problema de eliminación grave. La cáscara representa del 7-24% en base húmeda del peso total de la fruta (Berardini et al., 2005a). Por otra parte, se sabe que los residuos de mango, suelen descomponerse rápidamente, debido a su alto contenido de azúcares, micronutrientes, compuestos bioactivos y fibra. Por eso, en los últimos años la industria ha estado desarrollando alternativas de producción agrícola sustentable, que permitan el aprovechamiento de estos residuos agroindustriales. Algunas de las alternativas para el aprovechamiento de las cáscaras son la producción de biogás, la incorporación en alimentos como fuente de fibra (Ajila et al., 2010) y como fuente de compuestos bioactivos tales como polifenoles, carotenoides y vitaminas (Ajila et al., 2007; Berardini et al., 2005b). Por todos estos compuestos que dan funcionalidad a los subproductos del mango, se tiene un valor en el mercado y por lo tanto pueden ser aprovechados.

Por lo que, el presente proyecto tiene como objetivo aprovechar el contenido de compuestos bioactivos a partir de extractos de cáscara de mango, los cuales podrían retardar el proceso oxidativo, estabilizar el color y disminuir el recuento microbiano, en carne para hamburguesas de bovino en dos formas de procesamiento almacenadas a 4 ± 1 °C.

5 HIPÓTESIS

La aplicación de extractos de cáscara de mango por su contenido en compuestos polifenólicos retarda la oxidación lipídica, disminuye la carga microbiana y estabiliza el color rojo en un producto cárnico de bovino.

6 OBJETIVO

6.1 Objetivo general

Evaluar el efecto de la incorporación de extractos de cáscara de mango (*Mangifera indica* L.) sobre la oxidación lipídica, la carga microbiana y la estabilidad del color en un producto cárnico con dos diferentes formas de procesamiento, almacenado durante 11 días a 4 °C.

6.2 Objetivos específicos

1. Determinar el contenido de polifenoles totales y flavonoides totales, así como la actividad antioxidante en los extractos etanólicos e hidroetanólicos de cáscara de mango.
2. Determinar la actividad antimicrobiana de los extractos de cáscaras de mango en las cepas: *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *S. Typhimurium*, *E. coli* y *Ps. fluorescens*.
3. Evaluar el contenido de TBARS, contenido de metamioglobina, color instrumental y la carga microbiana (recuento total de bacterias aerobias) en un producto cárnico tratado con extractos de cáscara de mango.

7 METAS

1. Obtener extractos de cáscara de mango (etanólicos e hidroetanólicos [etanol:agua, 80/20, v/v]) caracterizados, considerando el contenido de polifenoles y flavonoides totales, así como la actividad antioxidante y antimicrobiana.
2. Seleccionar los extractos de cáscara de mango con mejor actividad antioxidante, para su incorporación en carne de bovino como aditivos naturales multifuncionales.
3. Establecer el efecto multifuncional de los extractos de cáscara de mango, al evaluar la oxidación lipídica, la estabilidad del color y recuento microbiano en un producto cárnico de bovino.

8 MATERIAL y MÉTODOS

8.1 Reactivos

Alcohol etílico calidad 96° G.L. (Ferandel, México, D.F.), Etanol absoluto (J.T. Baker, México), Folin-Ciocalteu (Sigma-Aldrich, EUA, Suiza), Carbonato de sodio (Na_2CO_3), Nitrato de sodio (NaNO_2), Cloruro de aluminio (AlCl_3), Hidróxido de sodio 1 N (NaOH) (Meyer, México, D.F.), Ácido gálico, Quercetina, 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo 0,1 mM (Sigma-Aldrich, EUA, Missouri), Caldo soya tripticaseina, Agar soya tripticaseina (BD bioxon, México), Resazurina (Sigma-Aldrich, EUA), Fosfato de sodio monobásico, fosfato de sodio dibásico (Meyer, México), Ácido tricloroacético (TCA, Sigma-Aldrich, Reino Unido), TBA, 1,1,3,3-tetraetoxipropano (Alfa Aesar, Austria), butil-hidroxi-tolueno (BHT, Sigma-Aldrich, Rusia).

8.2 Equipos

Balanza digital (Ohaus™ 71160442, México), Refractómetro (EUA), Penetrómetro (AKIMA, Washington, EUA), Colorímetro UltraScan Vis 1139 (HunterLab, EUA), Potenciómetro (OAKTON, EUA), Horno ahumador (UL listed, EUA), Rotavapor Yamato RE300 (Yamato Scientific Co, Ltd., Japón), Ultracongelador Revco (Kendro Laboratory Products. ULT 1386-3-A35, Sheville, EUA), Liofilizador (Labconco, Corporation, Kansas, EUA), Espectrófotómetro (Spectronic 20 genesis, Kansas City, EUA), Incubadora (Fisher Scientific, EUA), Espectrófotómetro UV/VIS Lambda 25 (Perkin Elmer precisely, EUA), Stomacher (Bagmixer 400, Francia), Rotavapor (Ika RV 8 VC, Alemania), Centrifuga (Eppendorf 5804R, Alemania), Vortex (Ika, Staufen, Alemania), pHmetro (pH ORPmeter, Hanna instrument, México), Ultraturrax (Ika, Alemania), Empacadora al vacío (Torrey, México).

8.3 Diseño experimental

El desarrollo del proyecto se realizó en tres etapas, las cuales se describen en la Tabla 5. En la etapa 1) se llevó a cabo la caracterización de los extractos de cáscara de mango; en la etapa 2) se realizó la caracterización de los tratamientos del producto cárnico con la incorporación de los extractos y en la etapa 3) se llevó a cabo el análisis microbiológico del producto cárnico con la incorporación de los extractos.

Tabla 5. Descripción por etapas del proyecto a realizar.

	Etapa 1	Etapa 2	Etapa 3
Propiedades fisicoquímicas y color instrumental del mango	Caracterización del extracto de cáscara de mango	Caracterización de los tratamientos del producto cárnico	Análisis microbiológico de los tratamientos del producto cárnico
Peso (g)	Determinar pH	Sustancias Reactivas al Ácido Tiobarbitúrico (TBARS)	Evaluación del pH
Longitud (cm)	Contenido de polifenoles totales	Metamioglobina (%)	Recuento total de bacterias aerobias
Firmeza (kgf)	Contenido de flavonoides totales	Color instrumental	
Sólidos solubles (°Brix)	Actividad antioxidante		
Acidez (%)	Actividad antimicrobiana		
Color			

8.4 Diseño de tratamientos

En la presente investigación se consideró un diseño de tratamientos diferente para cada etapa (Tabla 6). En la etapa uno se diseñaron 4 tratamientos, como resultado de la combinación de dos factores: variedad de mango con dos niveles (Ataúlfo y Manila) y el solvente con dos niveles (etanol 100% e hidroetanólico 80:20%). Para las etapas dos y tres, se diseñaron 35 tratamientos, como resultado de la combinación de dos factores: carne con antioxidante considerando siete niveles (CTL, C₁A, C₂A, C₁M, C₂M, ASC y BHT) y los días de almacenamiento con cinco niveles (1, 3, 6, 9 y 11).

Tabla 6. Diseño de tratamientos

Etapa 1		Etapa 2		Etapa 3	
Factor	Nivel	Factor	Nivel	Factor	Nivel
Variedad	Manila Ataúlfo	Tratamiento de carne	CTL	Tratamiento de carne	CTL
			C ₁ A		C ₁ A
			C ₂ A		C ₂ A
			C ₁ M		C ₁ M
			C ₂ M		C ₂ M
			ASC		ASC
			BHT		BHT
Solvente	Etanol 100% Etanol 80:20%	Días de almacenamiento	Uno	Días de almacenamiento	Uno
			Tres		Tres
			Seis		Seis
			Nueve		Nueve
			Once		Once

CTL: carne sin la incorporación de extractos (control negativo)

C₁A: carne con extracto de cáscara de mango Ataúlfo a una concentración de 1 g/kg de carne

C₂A: carne con extracto de cáscara de mango Ataúlfo a una concentración de 2 g/kg carne

C₁M: carne con extracto de cáscara de mango Manila a una concentración de 1 g/kg de carne

C₂M: carne con extracto de cáscara de mango Manila a una concentración de 2 g/kg carne

ASC: carne con una solución de ascorbato de sodio (control positivo)

BHT: carne con butil-hidroxi-tolueno al 0.02% (control positivo)

ETAPA 1

8.5 Adquisición de la materia prima

Se utilizaron dos variedades de mango: Ataúlfo y Manila (Figura 6 y 7, respectivamente), las cuales se procesaron en tres lotes. Se adquirieron en un mercado local de Huajuapán de León, Oaxaca., durante los meses de febrero y marzo del año 2019. Los frutos se transportaron al taller de alimentos de la Universidad Tecnológica de la Mixteca para la obtención de la cáscara de ambas variedades. Los mangos se seleccionaron de acuerdo al estado de madurez, la cual se evaluó en función de la concentración de sólidos solubles totales, acidez titulable (%) y firmeza (kg_f) (Hu et al., 2018).



Figura 6. Mango Ataúlfo



Figura 7. Mango Manila

8.5.1 Propiedades físico-químicas y color instrumental de la fruta de mango

A la fruta de mango, se le determinó el peso, la longitud y la firmeza (kg_f), así como también el color instrumental. Mientras que el contenido de SST, Acidez titulable (%) y pH se determinaron de forma directa a la pulpa de mango, la cual se obtuvo licuando y homogeneizando los trozos de pulpa de mango durante dos minutos.

8.5.1.1 Peso y longitud

Se determinó el peso usando una balanza digital (Ohaus™ 71160442, México) y la longitud se determinó usando un vernier manual (Kader, 2008).

8.5.1.2 Contenido de sólidos solubles

Para la determinación del contenido de sólidos solubles totales (SST), se colocó una gota de la pulpa de mango en el refractómetro (Refractómetro, EUA). Los resultados se reportaron como grados °Brix (AOAC, 1997).

8.5.1.3 Determinación de pH

El pH de la muestra se obtuvo de la lectura del potenciómetro (OAKTON, EUA) de acuerdo a la metodología reportada por la norma NMX-F-102-S-1978. Se pesaron 10 g de pulpa del mango y se determinó el pH de forma directa sobre la muestra.

8.5.1.4 Acidez titulable

La acidez titulable se determinó de acuerdo con la norma NMX-F-102-S-1978, usando un potenciómetro (OAKTON 510, EUA) previamente calibrado con soluciones buffers de pH 4 y 7. Se tomaron 10 g de la pulpa de mango licuada y se adicionaron 3 gotas de fenolftaleína. Se tituló con NaOH 0.1 N hasta alcanzar un pH de 8.3. La acidez fue determinada como el porcentaje de ácido cítrico por gramo de pulpa de mango y se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$\% \text{ acidez} = \frac{N * V * \text{Meq}}{P} \times 100$$

Donde:

N = Normalidad del NaOH

V = Volumen de NaOH usado para titular (mL)

Meq = Milimol equivalentes de ácido cítrico (0.06404 g de ácido cítrico anhidro)

P = Peso de la muestra (g)

8.5.1.5 Firmeza

La medición de la firmeza se realizó sobre la superficie lateral de la fruta usando un penetrómetro (AKIMA, Washington, EUA) equipado con una punta cónica de 8 mm de diámetro, hasta que se alcanzó una deformación (Kader, 2008).

8.5.1.6 Evaluación del color instrumental

Para determinar el color de la cáscara de mango, se utilizó un colorímetro UltraScan Vis 1139 (HunterLab, EUA), sobre las bases del sistema de color CIELAB. Las variables medidas fueron luminosidad (L^*), tendencia al color rojo (a^*), tendencia al color amarillo (b^*), saturación o croma (C^*) y el tono (Hue). El cálculo de C^* y Hue se realizó con las siguientes ecuaciones:

$$H = \arctang \left(\frac{b^*}{a^*} \right) \quad \text{y} \quad C = \sqrt{(a^{*2} + b^{*2})}$$

8.6 Obtención y acondicionamiento de la cáscara

La cáscara se acondicionó de acuerdo con la metodología reportada por Serna-Cock (2015), con algunas modificaciones. Los frutos de mango se lavaron con agua potable y se

sumergieron en agua clorada (100 ppm de hipoclorito de sodio) durante 10 minutos, para luego secarlos con toallas de papel. Posteriormente, en ambas variedades de mango, se realizó de manera manual la separación de la cáscara y la pulpa. El exceso de pulpa en las cáscaras se removió con una cuchara. Posteriormente, las cáscaras se cortaron en trozos a la mitad.

8.6.1 Secado y rendimiento de la cáscara de mango

El secado de las cáscaras se realizó a 40 °C en un horno de convección (UListed, EUA) hasta peso constante. Se registró la pérdida de peso de las cáscaras de ambas variedades de mango durante 19 y 16 h para mango Ataúlfo y Manila, respectivamente (Vázquez-Celestino et al., 2016). Con la siguiente ecuación se obtuvo el rendimiento:

$$\text{Rendimiento} = \frac{\text{Peso final de la cáscara}}{\text{Peso inicial de la cáscara}} \times 100 \%$$

Luego, las cáscaras secas se colocaron en bolsas al vacío selladas en una empacadora al vacío (Torrey, México) y se almacenaron en un contenedor en ausencia de luz.



Figura 8. Secado de cáscaras de mango. Figura 9. Cáscara de mango deshidratada.

8.6.2 Obtención del polvo de cáscara de mango

Las cáscaras secas se trituraron en un procesador de alimentos (KitchenAid, EUA). La cáscara triturada se pasó por un tamiz de malla 40 (Montinox, México) para obtener un tamaño de partícula de 425 µm. Finalmente, el polvo se empacó al vacío (Torrey, México) para luego ser almacenado en ausencia de luz y a 4±1 °C hasta su uso.

8.7 Obtención de los extractos de cáscara de mango

8.7.1 Extractos etanólicos

La obtención del extracto etanólico se realizó de acuerdo con la metodología reportada por Adilah et al. (2018), con algunas modificaciones. Se pesaron 100 g de cáscara seca de

mango y se maceraron con 400 mL de etanol potable al 96° G.L. (1:4 p/v) durante 24 horas a temperatura ambiente, sin exposición a la luz. Los extractos se filtraron utilizando papel filtro Whatman No.1. Luego, para maximizar la extracción, los residuos de la muestra se maceraron por segunda vez, llegando a un total de 48 h como tiempo de maceración. Los sobrenadantes se concentraron en un rotavapor (Yamato RE300, Japón) a 45 °C y posteriormente se liofilizaron.

8.8 Secado por liofilización de los extractos etanólicos

El secado por liofilización se realizó de acuerdo con la metodología reportada por Sogi et al. (2013) con algunas modificaciones. De inicio, los extractos etanólicos de las cáscaras de ambas variedades de mango se congelaron en un ultracongelador Revco ULT 1386-3-A35 (Kendro Laboratory Products., Sheville, EUA) a -80 °C. Posteriormente, se liofilizaron utilizando una liofilizadora Labconco (Labconco Corporation., Kansas City, EUA) a -40 °C durante 4 días. Una cantidad del extracto seco se disolvió en etanol absoluto grado reactivo para la determinación del CPT, CFT y AA, el resto del extracto se almacenó en tubos de ensaye en ausencia de luz a 4±1 °C, para su posterior aplicación en el producto cárnico.

8.8.1 Extractos hidroetanólicos

El extracto hidroetanólico se obtuvo de acuerdo a la metodología reportada por Adilah et al. (2018), con algunas modificaciones. Se maceraron 100 g de cáscara seca molida de mango con 400 mL de una mezcla etanol/agua (80:20, v/v) durante 24 horas, a una temperatura ambiente sin exposición a la luz. El sobrenadante del extracto se filtró usando papel filtro Whatman No. 1. Luego, para maximizar la extracción, el residuo se resuspendió una vez más llegando a un total de 48 h de maceración. Ambos sobrenadantes se combinaron para luego ser evaporados usando un rotavapor (Yamato RE300, Japón) a 45 °C. Posteriormente, los extractos se liofilizaron.

8.9 Secado por liofilización de los extractos hidroetanólicos

El secado por liofilización se realizó de acuerdo a la metodología reportada por Sogi et al. (2013) con algunas modificaciones. Los extractos hidroetanólicos de las cáscaras de ambas variedades de mango se congelaron en un ultracongelador (Kendro Laboratory Products., EUA) a -80 °C, durante 24 hrs. Posteriormente, se liofilizaron utilizando una liofilizadora Labconco (Labconco, EUA) a -55 °C durante 15 hrs. Una cantidad del extracto seco se disolvió con etanol absoluto grado reactivo para la determinación del CPT, CFT y

AA. El resto del extracto se almacenó en tubos de ensaye en ausencia de luz a 4 ± 1 °C, para su posterior aplicación en el producto cárnico.

8.10 Caracterización de los extractos de ambas variedades.

8.10.1 Contenido de polifenoles totales

Para determinar el contenido de polifenoles totales de cada extracto de cáscara de mango se usó el método de Folin-Ciocalteu según Villalobos-Delgado et al. (2017). Se añadieron alícuotas de 50 μ L del extracto (2 mg/mL) en 3 mL de agua destilada. Posteriormente, se añadieron 250 μ L de reactivo Folin-Ciocalteu 1.0 N. Transcurridos 5 minutos de reposo, se agregaron 750 μ L de Na_2CO_3 al 20% y 950 μ L de agua destilada. La mezcla de reacción se homogeneizó con vórtex (IKA vortex 3, USA) y se dejó reposar durante 40 min. La absorbancia se midió a 765 nm. Se realizó una curva de calibración usando como estándar ácido gálico (0.1 mg/mL) disuelto en etanol (grado reactivo). El contenido de polifenoles totales se expresó como mg equivalentes de ácido gálico (mg EAG/g) por gramo de extracto etanólico en base seca.

8.10.2 Contenido de flavonoides totales

Para la determinación del contenido de flavonoides totales en los extractos de cáscara de mango, se utilizó el método descrito por Villalobos-Delgado et al. (2017). Se usó una disolución con 1 mL de extracto (1 mg/mL) y 4 mL de agua destilada, 0.3 mL de NaNO_2 al 5% y 0.3 mL de AlCl_3 al 5%. Transcurrido 1 min de reposo, se adicionaron 2 mL de NaOH 1.0 M y 2.4 mL de agua destilada para posteriormente homogeneizar la disolución. Luego, se determinó la absorbancia a una longitud de 330 nm. Se realizó una curva de calibración usando como estándar quercetina (1 mg/mL) disuelta en etanol absoluto (Sigma-Aldrich, EUA, Missouri). El contenido de flavonoides totales se expresó como mg equivalentes de quercetina (mg EQ)/g de extracto etanólico en base seca.

8.10.3 Actividad antioxidante

Para el análisis de las propiedades antioxidantes se usó el método de Villalobos-Delgado et al. (2017). Se empleó una solución con 50 μ L de extracto (0.5 mg/mL), se adicionó con 2 mL de la solución de DPPH• 0.1 mM en etanol. Se mezcló hasta homogenizar y se determinó la absorbancia a 517 nm en un tiempo inicial 0 min a un tiempo final de 30 min. Los resultados se reportan como el porcentaje de inhibición de la actividad antioxidante.

$$\% \text{ inhibición} = \frac{(A_0 - A_a)}{A_0} \times 100$$

Donde

A_0 = Absorbancia después de 30 min en ausencia del antioxidante.

A_a = Absorbancia después de 30 min en presencia del antioxidante.

8.10.4 Actividad antimicrobiana *in vitro* de los extractos

8.10.4.1 Cepas bacterianas

La actividad antimicrobiana se evaluó por el método de microdilución en caldo. Para este ensayo, se utilizaron las siguientes cepas bacterianas: *E. coli*, *S. Aureus*, *S. Typhimurium* y *L. monocytogenes*, proporcionadas por el cepario del laboratorio de microbiología III de la Universidad Autónoma de Chihuahua. Así mismo, se realizó el aislamiento de *Ps. fluorescens* a partir de carne fresca molida de bovino obtenida de un supermercado local de la ciudad de Chihuahua, Chih. Posteriormente, se efectuó la siembra y el aislamiento de la bacteria.

8.10.4.2 Técnica de microdilución en caldo

Para la microdilución en caldo se preparó una concentración del inóculo bacteriano de cada una de las cepas utilizadas (1.5×10^8 UFC/mL) a partir de cada tubo número 0.5 de la escala de nefelométrica de McFarland. Se emplearon placas de 96 pozos para la evaluación de cada uno de los extractos tal como se muestra en la Figura 10. La fila A fue utilizada para el control negativo (CTL (-)) (100 μ L caldo/100 μ L BF) mientras que la fila B se utilizó como control positivo (+) (50 μ L inóculo/50 μ L BF/100 μ L caldo), de la fila D a la H se emplearon para evaluación de los extractos a concentraciones de 100 μ g/mL (D), 50 μ g/mL (E), 25 μ g/mL (F), 12.5 μ g/mL (G) y 6.2 μ g/mL (H).



Figura 10. Técnica de microdilución en caldo

8.10.4.3 Concentración mínima inhibitoria (CMI)

Para cada bacteria, el control positivo se inoculó en cinco pocillos de filas adyacentes (A1 – A5/A8 – A12) con 50 μ L de la suspensión de bacterias más 100 μ L de caldo de soya

tripticaseína (CST) y 50 μ L de buffer de fosfato (BF). Posteriormente, el control negativo se colocó en cinco pocillos adyacentes en la siguiente columna B1–B5 y B8–B12, para la variedad Ataúlfo y Manila respectivamente, con la adición de 100 μ L de CST y 100 μ L de BF de igual forma el control para cada extracto se preparó colocando 100 μ L del extracto más 100 μ L de BF. La solución inicial consistió en una concentración de 100 mg/mL de cada extracto, se añadió a cinco pocillos (50 μ L) de la posición D1 a D5 para la variedad Ataúlfo y D8 a D12 para la variedad Manila de la microplaca, de los cuales tres (D1 a D3/D8 a D10) fueron inoculados con la suspensión de cada bacteria. Los siguientes dos pocillos (D4-D5/D11-D12) se usaron como control de los extractos. Se prepararon un total de 5 concentraciones (6 a 100 mg/mL) de cada extracto y se repitió para cada concentración siguiendo la descripción anterior (Fig. 11). Las placas de microtitulación fueron selladas con Parafilm y se incubaron a 37 °C en condiciones atmosféricas. Este procedimiento se repitió para cada una de las bacterias a evaluar.

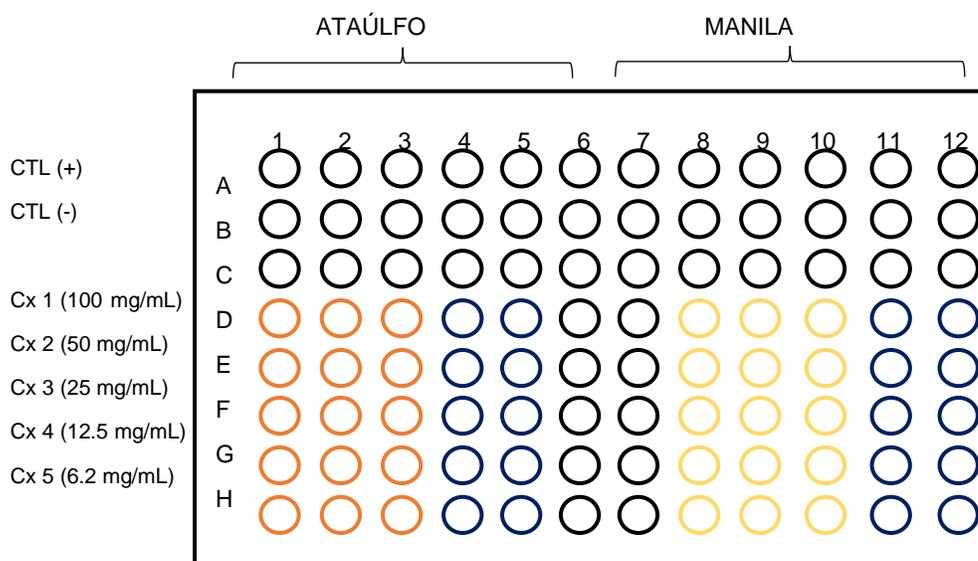


Figura 11. Distribución empleada en la evaluación *in vitro* de los extractos etanólicos de cáscara de mango para cada una de las bacterias.

- Inoculación en la variedad de mango Ataúlfo
- Inoculación en la variedad de mango Manila
- Control de extractos de ambas variedades

Para corroborar los resultados obtenidos de las cajas Petri, se adicionó 50 μ L de resazurina al 0.005% (Figura 12). La resazurina es un indicador de viabilidad celular no

tóxica (óxido-reducción) que tiene propiedades de fluorescencia y responde a la actividad metabólica de bacterias. Este colorante (azul no fluorescente) se reduce irreversiblemente a resorufina (rosado altamente fluorescente) por óxido-reductasas que se encuentran principalmente en la mitocondria de células vivas, la medida de fluorescencia obtenida de la resazurina es un indicador de la función mitocondrial (Escobar & Aristizábal, 2010).

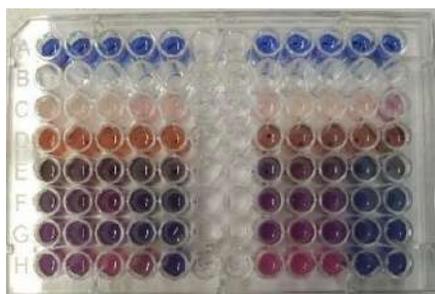


Figura 12. Determinación de CMI con resazurina

8.10.4.4 Concentración mínima bactericida (CMB)

Para determinar la concentración mínima bactericida de los extractos de cáscara de mango, se tomó un inóculo con un asa estéril y se realizó un subcultivo en placas de Petri con agar soya tripticaseína. Las placas inoculadas se incubaron a 37 °C durante 24 h, luego del cual se evaluó la presencia o no de crecimiento de colonias bacterianas. La CMB se calculó como la mínima concentración del extracto que no permite el crecimiento visible de colonias en la placa de Petri.

ETAPA 2

8.11 Caracterización de la carne con extractos de cáscara de mango

Para la evaluación de los extractos sobre el producto cárnico, se consideró utilizar el extracto con la mejor actividad antioxidante y antimicrobiana de cada variedad de mango. En general, a pesar de que los extractos hidroetanólicos presentaron mejor actividad antimicrobiana, se optó por utilizar los etanólicos debido a su mejor respuesta en variables relacionadas con la actividad antioxidante.

8.11.1 Preparación y acondicionamiento de la carne cruda para hamburguesas

La carne fresca de bovino se adquirió en una carnicería local en la ciudad de Huajuapán de León, Oaxaca, México, a las 24 horas *post mortem*; considerando como corte la contracara. La carne de bovino cruda fue procesada en el Taller de Alimentos de la Universidad Tecnológica de la Mixteca. La carne molida se obtuvo utilizando un molino,

con un cedazo de tamaño de partícula 3/16". Cada extracto se diluyó a razón de 25 mL en agua potable (Bonafont, México) para su aplicación en la carne para hamburguesa. La carne molida se homogeneizó manualmente y después se dividió en porciones iguales considerando los siguientes tratamientos: 1) carne molida sin extracto, control (CTL), 2) carne molida con extracto de mango Ataúlfo a una concentración de 1 g/kg de carne (C₁A), 3) carne molida con extracto de mango Ataúlfo a una concentración de 2 g/kg de carne (C₂A), 4) carne molida con extracto de mango Manila a una concentración de 1 g/kg de carne (C₁M), 5) carne molida con extracto de mango Manila con una concentración de 2 g/kg de carne (C₂M), 6) carne molida con una solución de 0.01 g/mL del antioxidante ascorbato de sodio (ASC) y 7) carne molida con BHT con una solución de 0.02%. Tanto los extractos como la solución de ascorbato de sodio y el BHT se incorporaron a una proporción de 25 mL/kg de carne molida usando una mezcladora (KitchenAid., St. Joseph, MI, USA) durante 1 min. Posteriormente, la carne se moldeó y empacó sobre bandejas de poliestireno cubiertas con una película plástica de PVC y se almacenaron a 4±1 °C durante 11 días. Cada tratamiento se analizó al día 1, 3, 6, 9 y 11 días, considerando los siguientes análisis: pH, sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS), contenido de metamioglobina y color instrumental y el análisis microbiológico (recuento total de bacterias aerobias).

8.11.2 Preparación y acondicionamiento de las muestras de carne cocida

Para la fabricación de la carne de bovino cocida, se tomaron 20 g de cada uno de los tratamientos que se elaboraron de la carne cruda. Cada tratamiento se sometió a cocción en un horno convencional (Oster, México) durante 15 min, hasta alcanzar una temperatura interna final de 70 °C. Cada tratamiento se evaluó al día 1, 3, 6, 9 y 11 días, considerando los siguientes análisis: pH y los TBARS.

8.11.3 Determinación de pH de las muestras de carne

El pH se realizó de acuerdo a la metodología reportada por Sánchez-Escalante et al. (2011) con algunas modificaciones. Se homogeneizaron 5 g de carne molida con 45 mL de agua destilada, usando un Ultraturrax (IKA T18 digital, Alemania) durante 1 min a 13,600 rpm. La suspensión se filtró empleando gasa de algodón para eliminar el tejido conectivo. Posteriormente, el pH de los tratamientos se midió con un pH-metro digital mod. HI 2211 (Hanna instrument, México).

8.11.4 Determinación de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS)

Se determinó la oxidación lipídica por medio de las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) de acuerdo a la metodología reportada por Villalobos-Delgado et al. (2017). Se homogeneizaron 2 g de carne con 20 mL de agua destilada utilizando un Ultraturrax (IKA T18 digital, Alemania) a una velocidad de 13,600 rpm durante 1 min. Posteriormente, se mezcló 1 mL de carne homogeneizada con 30 µL de butilhidroxitolueno (BHT) y 2 mL de solución de ácido tiobarbitúrico (TBA) (20 mM de TBA en ácido tricloroacético). A continuación, la mezcla se agitó usando un vortex (IKA vortex 3, USA) durante 1 min y se incubaron en baño María a 80 °C durante 20 min. Inmediatamente después, se enfriaron en un baño de hielo durante 10 min a 12 °C. Después, se centrifugó a 2,500 rpm (Eppendorf 5804 R, Alemania) a 4±1 °C durante 10 min. Se determinó la absorbancia a 531 nm usando un Espectrofotómetro (Spectronic 20 genesis, Kansas City, EUA). Los TBARS se determinaron usando una curva estándar de 1,1,3,3-tetraetoxipropano (TEP) (Sigma Aldrich, EUA) y los resultados se expresaron como mg de malonaldehído/kg de carne (mg MDA/kg carne molida).

8.11.5 Contenido de metamioglobina

El contenido de metamioglobina se realizó de acuerdo con la metodología reportada por Fernández-López et al. (2008) y Kim et al. (2013) con algunas modificaciones. Se mezclaron 5 g de carne molida fresca con 25 mL de una solución buffer de fosfatos 0.04 M (pH 6.8) a una temperatura de 0 a 4 °C. Posteriormente, la mezcla se homogeneizó usando un ultraturrax (IKA T18 digital, Alemania) a 13,000 rpm durante 30 segundos. Se dejó reposar durante una hora y luego se centrifugó a 9,000 rpm durante 20 min a una temperatura de 4 °C. Transcurrido este tiempo, la mezcla se filtró con papel filtro Whatman del No.4., y se determinó la absorbancia a 525, 545, 565 y 572 nm. El contenido de metamioglobina se calculó de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\% \text{ MetMb} = \left[-2.51 \left(\frac{A_{572}}{A_{525}} \right) + 0.777 \left(\frac{A_{565}}{A_{525}} \right) + 0.8 \left(\frac{A_{545}}{A_{525}} \right) + 1.098 \right] \times 100$$

8.11.6 Determinación de color instrumental

El color de la carne se evaluó usando un colorímetro UltraScan Vis 1139 de acuerdo con Villalobos-Delgado et al. (2017) sobre la base del sistema de color CIELAB (L^* , a^* , b^*), como se describió previamente en la sección 8.5.1.6. Para interpretar el color se determinó la saturación (C^*) y el tono (Hue). La diferencia de color (ΔE_{1-11}), se determinó entre las muestras de carne al día 1 y el día 11 de almacenamiento. Se calculó de acuerdo a la

siguiente ecuación (Lorenzo et al., 2014; Pateiro et al., 2018; Rodríguez-Carpena et al., 2011).

$$\Delta E_{11} - \Delta E_1 = [(L_{11} - L_1)^2 + (a_{11} - a_1)^2 + (b_{11} - b_1)^2]^{1/2}$$

ETAPA 3

8.11.7 Análisis microbiológico en carne: recuento total de bacterias aerobias

La preparación de las muestras de carne se realizó de acuerdo a la metodología establecida por la Norma Oficial Mexicana, NOM-110-SSA1-1994 (Secretaría de Salud, 1994a). Se pesaron 10 g de muestra en bolsas de plástico estéril, para diluirse en 90 mL de una solución estéril de agua peptonada (0.1%) homogeneizando de forma manual, durante 2 min. Posteriormente, se realizaron seis diluciones (9 mL) seriadas para cada muestra. De la serie de diluciones y por duplicado, se tomó y depositó 1 mL de cada dilución en cajas Petri. Luego, se añadieron aproximadamente 20 mL de medio cuenta estándar y se mezclaron cuidadosamente mediante seis movimientos oscilatorios lado a lado dejando solidificar. Las placas, se incubaron a 35 ± 2 °C durante 48 ± 2 h. El conteo de las bacterias se reportó como el \log_{10} de unidades formadoras de colonia de bacterias aerobias en carne molida (\log_{10} UFC/g) de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana, NOM-092-SSA1-1994 (Secretaría de Salud 1994b).

8.12 Análisis estadístico

Los análisis estadísticos se realizaron utilizando el software STATISTICA, versión 10. Se consideró un análisis de varianza (ANOVA) de una sola vía para determinar la caracterización de las propiedades físico-químicas del fruto de mango, la actividad antioxidante y el contenido de polifenoles y flavonoides de los extractos de cáscara de cada variedad de mango. Se utilizó un análisis de varianza de dos vías para analizar el efecto del tratamiento (CTL, C₁A, C₂A, C₁M, C₂M, CASS y BHT) y los días de almacenamiento (1, 3, 6, 9 y 11 días) sobre el pH, los valores de TBARS, contenido de metamioglobina, color instrumental y recuento microbiológico de la carne para hamburguesas. Para estos análisis, los tratamientos, el día de almacenamiento y su interacción se consideraron como efectos fijos, mientras que el lote se incluyó en el modelo como un efecto aleatorio. Cuando un factor fijo mostró diferencia en el ANOVA las medias se compararon usando una prueba de Duncan con un nivel de significancia del 95% ($P < 0.05$).

9 RESULTADOS Y DISCUSIONES

En la siguiente sección, se presentan los resultados y discusiones obtenidas de las propiedades fisicoquímicas y el color instrumental del mango de ambas variedades, así como el rendimiento de la cáscara seca. Asimismo, se presentan los resultados obtenidos de la caracterización de los extractos de la cáscara de mango, donde se incluye la prueba *in vitro* a partir de los extractos (etanólicos e hidroetanólicos) de ambas variedades de mango, considerando variables relacionadas como la actividad antioxidante (contenido de polifenoles totales, contenido de flavonoides totales y la actividad antioxidante) y antimicrobiana (concentración mínima inhibitoria y concentración mínima bactericida). También se presentan los resultados obtenidos de la caracterización de los tratamientos del producto cárnico considerando los valores del pH, TBARS, contenido de metamioglobina (%), color instrumental y recuento microbiano.

9.1 Propiedades físico-químicas y color instrumental de ambas variedades de mango.

Como se muestra en la Tabla 7, las variables de calidad evaluados en el fruto de mango de ambas variedades fueron el peso, la longitud, la firmeza y el color instrumental, este último expresado como L^* , a^* , b^* , Tono (Hue) y Cromo. Las variables evaluadas en la pulpa (previamente homogenizada), fueron el pH, el contenido de SST y la acidez titulable. Estas últimas son variables indicadoras de calidad del mango, las cuales determinan el estado de madurez del fruto (Kader, 2008).

En la Tabla 7, se observa que para las propiedades físicas de peso, longitud y firmeza no se tuvieron diferencias significativas ($P>0.05$) entre mango Ataúlfo y Manila. Un comportamiento similar se pudo observar para los valores de sólidos solubles totales (SST) y para la acidez titulable, en los cuales no se observaron diferencias significativas ($P>0.05$). No obstante, el valor obtenido para el pH muestra diferencias significativas ($P<0.05$) entre ambas variedades, presentando la variedad de Ataúlfo un valor de pH de 4.18 ± 0.09 , el cual se encuentra ligeramente por debajo del pH 4.78 ± 0.12 de la variedad Manila. Lo contrario a esta investigación, Cheema & Sommerhalter (2015) reportaron un valor de pH de 5.4 a 6.4 para mango Ataúlfo, el cual se encuentra por encima del valor obtenido en esta investigación. Por su parte, Almanza et al. (2016) y Siller-Cepeda et al. (2009) reportan para la variedad Manila un intervalo de valores de pH similares (3.5 a 4.7), lo cual se puede atribuir a la diferencia de los estados de madurez que presentaban las frutas al momento de la determinación.

Para las variables de color, solo la tendencia al amarillo (b^*) y el tono (Hue) presentaron diferencias significativas ($P < 0.05$) entre ambas variedades. La variedad Ataúlfo presentó una intensidad al color amarillo (b^*) de 51.01 ± 1.31 y un tono (Hue) de 73.47 ± 0.36 , mientras que la variedad Manila mostró un tono (Hue) de 77.75 ± 1.55 y un valor de 46.86 ± 1.51 en b^* , menos intenso en comparación con la variedad Ataúlfo. Las diferencias de color entre variedades se atribuyen a la acumulación exponencial de los carotenoides en la fruta del mango durante su maduración (Kabir et al., 2017). Almanza et al. (2016), Robles-Sánchez et al. (2006), Salvi et al. (2017) y Yahia et al. (2006) reportan para la variedad Ataúlfo, un rango de valores de 67.51 a 86.6 para tono (Hue), rango que incluye el valor obtenido para la variedad Ataúlfo en esta investigación. Por otra parte, para la variedad Manila los valores reportados de b^* se encuentran ligeramente por arriba del rango reportado por otros investigadores (32–44). También autores como Ornelas-Paz & Yahia (2014), Siller-Cepeda et al. (2009) y Vázquez-Celestino et al. (2016), reportan un rango de 64 a 94 para tono (Hue).

Tabla 7. Propiedades fisicoquímicas y color instrumental de ambas variedades de mango.

	Variedad	
	Ataúlfo	Manila
Peso (g)	219.77 ± 2.03^a	190.45 ± 9.08^a
Longitud (cm)	10.07 ± 0.26^a	10.35 ± 0.19^a
Firmeza (kg_f)	2.96 ± 0.12^a	2.68 ± 0.16^a
SST ($^{\circ}$Brix)	17.41 ± 0.29^a	16.63 ± 0.59^a
pH	4.18 ± 0.09^a	4.78 ± 0.12^b
Acidez titulable (%)	0.77 ± 0.42^a	0.23 ± 0.01^a
Color instrumental		
L	67.59 ± 0.49^a	66.31 ± 0.97^a
a^*	15.29 ± 0.60^a	11.40 ± 2.56^a
b^*	51.01 ± 1.31^a	46.86 ± 1.51^b
Tono (Hue)	73.47 ± 0.36^a	77.75 ± 1.55^b
Croma	53.30 ± 1.40^a	49.46 ± 2.33^a

Los valores son la media \pm error estándar.

^{a,b}: Medias en la misma fila con diferente literal son estadísticamente diferentes ($P < 0.05$; Prueba de Duncan).

9.2 Rendimiento de la cáscara de mango

En la Figura 13, se muestra el rendimiento obtenido de la cáscara tanto húmeda como seca de mango de Ataúlfo y Manila.

Como se puede observar en la gráfica 1, el rendimiento que se obtuvo para la cáscara en húmedo es mayor para la variedad Ataúlfo, con un valor de 12.33% comparado con el valor de 9.44% de la variedad Manila. Dichos valores, se encuentran por debajo del 13% reportado por Djantou et al. (2011) con respecto a otras variedades. Lo anterior se puede atribuir al grosor, tamaño y contenido de fibra de la cáscara del mango. Para este caso, la variedad Manila presenta una cáscara más delgada con un contenido de fibra menor que la variedad Ataúlfo (Brecht, 2010; Kader, 2008).

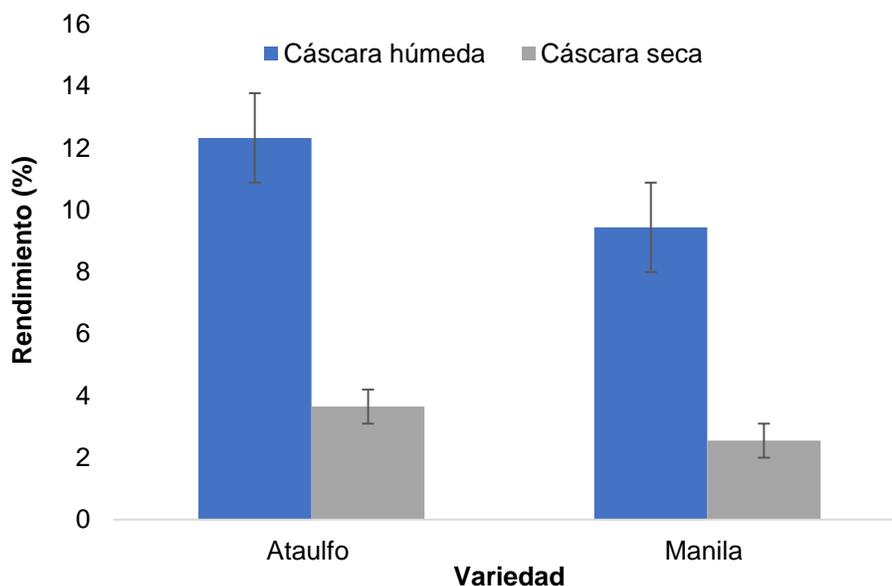


Figura 13. Rendimiento de la cáscara húmeda y seca de ambas variedades de mango.

9.3 Contenido de polifenoles y flavonoides totales y porcentaje de actividad antioxidante de los extractos de cáscara de mango.

Las Tablas 8 y 9 muestran el contenido de polifenoles totales, el contenido de flavonoides totales y el porcentaje de la actividad antioxidante que se obtuvo de los extractos de cáscara de mango de ambas variedades.

El contenido de polifenoles totales que se obtuvo de los extractos etanólicos e hidroetanólicos de ambas variedades, muestran diferencias significativas ($P < 0.05$) entre ambas técnicas de extracción.

Tabla 8. Comparación del contenido de polifenoles totales (CPT), contenido de flavonoides totales (CFT) y actividad antioxidante (AA, %) por dos técnicas de extracción en extractos de cáscara de mango Ataúlfo.

	Ataúlfo	
	Etanólico	Hidroetanólico
CPT	343.95 ± 2.99 ^a	132.52 ± 1.90 ^b
CFT	166.51 ± 1.63 ^a	83.40 ± 9.56 ^b
AA (%)	77.58 ± 0.87 ^a	59.43 ± 0.46 ^b

Los valores son la media ± error estándar.

CPT expresado en mg equivalentes de ácido gálico/g de extracto etanólico (mg EAG/g).

CFT expresado en mg equivalentes de quercetina/g de extracto etanólico (mg EQ/g).

^{a,b}: Medias en la misma fila con diferente literal son estadísticamente diferentes ($P < 0.05$; Prueba de Duncan).

Así, se puede observar que el extracto etanólico de la variedad Ataúlfo presentó un valor en el CPT de 343.95±2.99 mg EAG/g extracto, mientras que el extracto hidroetanólico presentó un valor mayor de 132.52±1.90 mg EAG/g (Tabla 8). Estos resultados, difieren de lo que reporta Lizárraga & Hernández (2018) quienes comentan que la cáscara de mango Ataúlfo contiene 68.13 mg de polifenoles/g de peso seco, mientras que la variedad Tommy Atkins y Haden contienen 42.40 y 70 mg de polifenoles/g de peso seco, respectivamente. Se ha reportado que el contenido estimado de polifenoles en la cáscara de mango (sin mencionar variedad) es de 4066 mg (EAG)/g (materia seca) (Masibo & He, 2008), donde los principales polifenoles encontrados en cáscara de mango incluyen mangiferina, catequinas, quercetina, kaempferol, ramnetina, antocianinas y ácidos tales como gálico, protocatéquico, elágico, ferúlico, siríngico benzoico y 2-hidroxicinámico (Kabir et al., 2017; Lizárraga & Hernández, 2018; Masibo & He, 2008), muchos de los cuales poseen actividad antioxidante *in vitro* (Lizárraga & Hernández, 2018).

Por otra parte, el CFT mostró diferencias significativas ($P < 0.05$) entre ambos extractos de la variedad Ataúlfo (Tabla 8). Para el extracto etanólico se obtuvo un contenido de 166.51±1.63 mg EQ/g extracto mientras que para el hidroetanólico fue de 83.40±9.56 mg EQ/g extracto. Palafox-Carlos et al. (2012) mencionan un mayor contenido de compuestos flavonoides, ácidos fenólicos y otros antioxidantes en la cáscara de mango Ataúlfo comparados con la pulpa de la misma variedad. Por su parte, Dorta et al. (2014) reporta que el método de extracción tiene una mayor influencia en el contenido fenólico que la variedad o el subproducto del mango a estudiar. Por lo que, la eficiencia de la extracción de biocompuestos es afectada por la naturaleza química de los fitoquímicos, el método de extracción usado, el tamaño de la partícula, el solvente usado, así como la presencia de

sustancias interferentes (Shah et al., 2014; Tomaz et al., 2019). Asimismo, estos autores refieren que los solventes más adecuados son mezclas acuosas conteniendo etanol, metanol, acetona y acetato de etilo; siendo el etanol conocido como un buen solvente para la extracción de los polifenoles (Shah et al., 2014).

Así mismo, para la variedad Ataúlfo, se pudo observar que la mayor actividad antioxidante se presentó en el extracto etanólico mostrando $77.58 \pm 0.87\%$ en comparación con el extracto hidroetanólico, el cual presentó $59.43 \pm 0.46\%$ (Tabla 8). Siller-Sánchez et al. (2013), señalan que la capacidad antioxidante de los flavonoides de la cáscara de mango Ataúlfo se atribuye a una combinación de sus propiedades quelantes de hierro y secuestradores de radicales libres, además de la inhibición de las oxidasas evitando así la formación de especies reactivas de oxígeno y de hidroperóxidos orgánicos. Además, inhiben enzimas involucradas indirectamente en los procesos oxidativos, como la fosfolipasa A2; al mismo tiempo los compuestos flavonoides estimulan el incremento de catalasa y superóxido dismutasa con propiedades antioxidantes, lo que podría indicar que estas propiedades pudieran estar presentes de la misma manera en la cáscara del mango Manila.

Tabla 9. Comparación del contenido de polifenoles totales (CPT), contenido de flavonoides totales (CFT) y actividad antioxidante (AA, %) por dos técnicas de extracción en extractos de cáscara de mango Manila.

	Manila	
	Etanólico	Hidroetanólico
CPT	284.56 ± 2.31^a	82.66 ± 1.68^b
CFT	130.35 ± 1.39^a	42.70 ± 4.87^b
AA (%)	70.60 ± 0.60^a	50.11 ± 0.48^b

Los valores son la media \pm error estándar.

CPT expresado en mg equivalentes de ácido gálico/g de extracto etanólico (mg EAG/g).

CFT expresado en mg equivalentes de quercetina/g de extracto etanólico (mg EQ/g).

^{a,b}: Medias en la misma fila con diferente literal son estadísticamente diferentes ($P < 0.05$; Prueba de Duncan).

Ambos extractos de la variedad Manila muestran diferencia significativa en el CPT, con valores de 284.56 ± 2.31 y 82.66 ± 1.68 mg EAG/g para el extracto etanólico e hidroetanólico, respectivamente (Tabla 9). Al respecto el CPT que se obtuvo de los extractos hidroetanólicos se encuentra próximo al valor reportado por Dorta et al. (2012) siendo de 92 mg EAG/g. Por otra parte, los valores de CPT de los extractos etanólicos de esta investigación se encuentran dentro de los valores reportados previamente por otros autores para otras variedades de mango (Badami, Raspuri, Tommy atkins) con un intervalo de

33.31 a 31.85 mg EAG/g de extracto de compuestos polifenólicos (Ajila et al., 2007; Dorta et al., 2012; Kim et al., 2010; Sogi et al., 2013).

De la misma manera, el CFT mostró diferencia significativa ($P<0.05$) para los extractos de la variedad Manila (Tabla 9). Se observaron valores de 130.35 ± 1.39 mg EQ/g para el extracto etanólico y 42.70 ± 4.87 mg EQ/g para el extracto hidroetanólico. A la fecha, no se tienen reportes del contenido de flavonoides en la variedad Manila. Sin embargo, Sultana et al. (2012) reportan un CFT de la cáscara de mango de la variedad Langra y Chonsa de 90.89 a 92.55 mg EC/g peso seco, respectivamente. Por su parte, la actividad antioxidante (AA) de los extractos de cáscara de mango Manila, mostraron diferencia significativa ($P<0.05$) entre técnicas de extracción. La AA que se obtuvo fue de 70.60 ± 0.60 y de $50.11\pm 0.48\%$ para el extracto etanólico e hidroetanólico, respectivamente. Ajila et al. (2007) mencionan que la actividad antioxidante se atribuye a los compuestos fenólicos presentes en la cáscara de mango, los cuales son buenos donantes de electrones. Además, algunos autores reportan que la cáscara de mango tiene una mayor actividad de eliminación de radicales libres de 61.1 a 66% (Sultana et al., 2012). Los resultados de la AA en el extracto etanólico se correlaciona positivamente con su CPT y CFT.

9.4 Actividad antimicrobiana *in vitro*

En la siguiente sección se muestran los resultados de la concentración mínima inhibitoria y la concentración mínima bactericida de los extractos etanólicos e hidroetanólicos de ambas variedades de mango evaluados sobre bacterias relacionadas con el deterioro de los alimentos (*Ps. fluorescens*, *E. coli*) y patógenos (*L. monocytogenes*, *S. Typhimurium*, *S. aureus*).

9.4.1 Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de los extractos etanólicos e hidroetanólicos de ambas variedades.

En la Tabla 10, se puede observar que la variedad Ataúlfo presenta un mayor efecto inhibitorio hacia cepas Gram positivas (*S. aureus*, *L. monocytogenes*) en comparación con cepas Gram negativas (*Ps. fluorescens*, *E. coli* y *S. Typhimurium*). En lo que se refiere a los extractos de cáscara de la variedad Ataúlfo se puede observar que el extracto etanólico mostró la mejor CMI a una concentración de 50 mg/mL para la cepa de *S. Typhimurium*. Para las cepas de *E. coli* y *Ps. fluorescens* la CMI que presentaron los extractos EtOH y EtOH:H₂O es superior a 100 mg/mL. Esta baja sensibilidad de los microorganismos Gram negativos a los agentes antimicrobianos presentes en los extractos se debe a la presencia de una membrana externa en la pared celular de las bacterias Gram negativas, membrana

compuesta por fosfolípidos y lipopolisacáridos, lo que reduce el paso de moléculas hidrófobas (El Moussaoui et al., 2019). Por otra parte, la cepa *S. aureus* mostró una CMI de 25 y 12.5 mg/mL para el extracto etanólico e hidroetanólico, respectivamente. Por último, la cepa de *L. monocytogenes* se inhibió a una concentración de 50 mg/mL con el extracto etanólico y 25 mg/mL con el extracto hidroetanólico. Esta actividad antimicrobiana pudo favorecerse a la posible presencia de la mangiferina, polifenol que tienen propiedad antimicrobiana contra bacterias Gram positivas y Gram negativas (Imran et al., 2017). Por otra parte, la CMI que reflejó el extracto de cáscara de la variedad Manila para la cepa *S. Typhimurium* fue de 100 y 50 mg/mL para el extracto etanólico e hidroetanólico, respectivamente. Para las cepas *E. coli* y *Ps. Fluorescens*, al igual que la variedad Ataúlfo, la CMI que presentaron los extractos es superior a 100 mg/mL. Por su parte, la cepa de *S. aureus*, tuvo un CMI de 25 y 12.5 mg/mL para los extractos etanólicos e hidroetanólicos, respectivamente. Con respecto, a la cepa de *L. monocytogenes* los extractos de la variedad Manila mostraron la misma concentración para CMI de 25 mg/mL para el extracto EtOH y para EtOH:H₂O.

Hayrapetyan et al. (2012) reportan que los ácidos gálico y elágico presentes en la cáscara de mango, son compuestos polifenólicos que presentan una alta actividad antioxidante, así como antimicrobiana, principalmente contra *L. monocytogenes* a una concentración de 2000 µg/mL. Sin embargo, la actividad antimicrobiana no puede atribuirse a la presencia de una sola molécula de las cáscaras de mango, sino a la acción de los compuestos de carácter fenólico que ejercen efectos sinérgicos, formando un fitocomplejo activo en la inhibición microbiana (Siller-Sánchez et al., 2013). Algunos autores como Szabo et al. (2019) evaluaron extractos metanólicos en agua de residuos de procesamiento (mezcla de semillas y cáscaras) de diez variedades de tomate sobre bacterias gram positivas (*Staphylococcus aureus* y *Listeria monocytogenes*) y Gram negativas (*Pseudomonas aeruginosa*, *S. Typhimurium* y *Escherichia coli*). Reportan que los extractos tuvieron actividad antibacteriana con una concentración de 0.2 mg/mL contra bacterias Gram positivas (*Staphylococcus aureus*). Por otra parte, Escalona (2012) evaluó extractos de hojas de *Tamarindus indica* Lin. Con una concentración máxima de 1.2 mg/mL, reportaron la inhibición total de *E. coli*.

Tabla 10. Concentración Mínima Inhibitoria (CMI, mg/mL) de los extractos etanólicos (EtOH) e hidroetanólicos (EtOH:H₂O) de ambas variedades.

Variedad	Microorganismo									
	<i>S. Typhimurium</i>		<i>E. coli</i>		<i>Ps. fluorescens</i>		<i>S. aureus</i>		<i>L. monocytogenes</i>	
	EtOH	EtOH:H ₂ O	EtOH	EtOH:H ₂ O	EtOH	EtOH:H ₂ O	EtOH	EtOH:H ₂ O	EtOH	EtOH:H ₂ O
Ataúlfo	50	100	>100	>100	>100	>100	25	12.5	50	25
Manila	100	50	>100	>100	>100	>100	25	12.5	25	25

9.4.2 Concentración Mínima Bactericida (CMB) de los extractos etanólicos e hidroetanólicos de ambas variedades.

La Tabla 11, muestra la concentración mínima bactericida (CMB) obtenida de los extractos etanólicos e hidroetanólicos de cáscara de mango de ambas variedades. En lo que se refiere a la variedad Ataúlfo, se puede observar que la CMB para *S. Typhimurium* fue a una concentración de 100 mg/mL para ambos extractos. Mientras que, para los mismos extractos *E. coli* presentó una CMB superior a 100 mg/mL. Lo que significa que para tener un efecto bactericida se requiere una concentración superior a 100 mg/mL de los extractos. Para la bacteria de *Ps. Fluorescens*, el extracto etanólico mostró una concentración superior a 100 mg/mL, mientras que el extracto hidroetanólico mostró actividad bactericida de 25 mg/mL. Para la bacteria Gram positiva *S. aureus*, la CMB se obtuvo a una concentración de 25 y 100 mg/mL para los extractos etanólicos e hidroetanólicos, respectivamente. La concentración mínima bactericida que se obtuvo para *L. monocytogenes* fue para el extracto etanólico de 100 mg/mL, mientras que para el extracto hidroetanólico fue de 50 mg/mL. Esta actividad antimicrobiana en las bacterias Gram positivas se puede atribuir a la presencia de compuestos polifenólicos de bajo peso molecular los cuales ejercen efectos antimicrobianos por la difusión del ácido no disociado a través de la membrana, lo que conduce a la acidificación del citoplasma y, en algunos casos, a la muerte celular (Villalobos-Delgado et al., 2019).

Mushore & Matuvhunye (2013) reportan que la actividad antibacteriana directa de los flavonoides exhibe sus acciones a través de los efectos sobre la permeabilidad de la membrana y mediante la inhibición de enzimas unidas a la membrana como la ATPasa y la fosfolipasa. Dichos efectos de la actividad antimicrobiana de los flavonoides se realizan por tres mecanismos: daño de la membrana citoplasmática (causado por perforación y/o reducción de la fluidez de la membrana), inhibición de la síntesis de ácido nucleico (causada por la inhibición de la topoisomerasa) e inhibición del metabolismo energético (causado por inhibición de NADH-citocromo c reductasa) (Villalobos-Delgado et al., 2019).

Por otra parte, la actividad bactericida que mostraron los extractos de la variedad Manila para la bacteria de *S. Typhimurium* fue mayor de >100 mg/mL y de 100 mg/mL, para EtOH y EtOH:H₂O, respectivamente. Se observa que para *E. coli*, no se obtuvo actividad bactericida, lo que significa que para tener una CMB se requieren concentraciones superiores de >100 mg/mL. Lo mismo se vio reflejado en la cepa de *Ps. Fluorescens* para el extracto etanólico, mientras que para el extracto hidroetanólico la actividad bactericida

se mostró a una concentración de 25 mg/mL. Por su parte para *S. aureus*, el extracto etanólico requiere una concentración superior de >100 mg/mL para presentar actividad bactericida. Mientras que el extracto hidroetanólico mostró actividad a una concentración de 100 mg/mL. Por último, para *L. monocytogenes* se tuvo actividad bactericida a una concentración de 25 y 50 mg/mL en ambos extractos. Así, en general los resultados obtenidos mostraron que los valores de CMI fueron más bajos que los valores de CMB, lo que sugiere que a concentraciones más bajas los extractos son bacteriostáticos y a concentraciones más altas los extractos actúan como bactericidas. En un estudio realizado por Mushore & Matuvhunye (2013) encontraron que los extractos de la corteza de *Mangifera indica* presentaron una actividad bactericida en contra de *S. aureus*. Aunque ellos no evaluaron la cáscara del mango se observa una correlación entre la actividad bactericida obtenida en la corteza y la cáscara. Por otra parte, Lozoya et al. (2018) reportan que la actividad antimicrobiana de extractos de cáscara de mango y de tuna fue de 3.44 ± 0.52 mg/mL y de >15 mg/mL en *Staphylococcus aureus*, respectivamente.

Tabla 11. Concentración Mínima Bactericida (CMB, mg/mL) de los extractos etanólicos (EtOH) e hidroetanólicos (EtOH:H₂O) de ambas variedades.

Variedad	Microorganismo									
	<i>S. Typhimurium</i>		<i>E. coli</i>		<i>Ps. Fluorescens</i>		<i>S. aureus</i>		<i>L. monocytogenes</i>	
	EtOH	EtOH:H ₂ O	EtOH	EtOH:H ₂ O	EtOH	EtOH:H ₂ O	EtOH	EtOH:H ₂ O	EtOH	EtOH:H ₂ O
Ataúlfo	100	100	>100	>100	>100	25	25	100	100	50
Manila	>100	100	>100	>100	>100	25	>100	100	25	50

9.5 Caracterización de la adición de extractos de cáscara de mango sobre carne de bovino.

9.5.1 Efecto de la incorporación de cáscara de mango sobre el pH, los TBARS y el contenido de metamioglobina en carne para hamburguesas crudas.

En la Tabla 12 se muestran los resultados del efecto sobre el pH, las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) y el contenido de metamioglobina (%) de carne cruda de bovino por la adición de extractos de cáscara de mango de la variedad Ataúlfo y Manila, almacenadas a 4 ± 1 °C durante los días 1, 3, 6, 9 y 11.

Tanto el pH como los TBARS fueron afectados ($P<0.05$) por la incorporación de los extractos de cáscara de mango de ambas variedades sobre la carne cruda, mientras que el contenido de metamioglobina no mostró diferencia significativa ($P>0.05$) por la incorporación de dichos extractos. En lo que se refiere al pH, del día 1 al 6 de almacenamiento, no se observaron diferencias significativas entre tratamientos. No obstante, en los días 9 y 11 de almacenamiento, se observaron diferencias ($P<0.05$) entre tratamientos, siendo C₂A el tratamiento que presentó los valores de pH más bajos (6.10 ± 0.16 y 6.30 ± 0.14 , respectivamente) con respecto al CTL.

Estos bajos valores de pH se pueden atribuir a la presencia de ácidos orgánicos presentes en la cáscara de mango, tales como ácido gálico, protocatéquico, elágico, ferúlico, siríngico benzoico y 2-hidroxicinámico (Kabir et al., 2017; Lizárraga & Hernández, 2018; Masibo & He, 2008). Por otra parte, a través del tiempo de almacenamiento el CTL, C₁M y C₂M, aumentaron los valores de pH ($P<0.05$), comparados con los tratamientos C₁A, C₂A, ASC y BHT, los cuales no presentaron diferencias significativas ($P>0.05$). Cabe señalar, que el CTL presentó el valor de pH más alto. El aumento en los valores de pH en CTL, se pueden atribuir a un incremento de metabolitos microbianos básicos. Las bacterias utilizan aminoácidos que son producto de la descomposición de las proteínas, a medida que la glucosa almacenada se agota. La acumulación de amoníaco, aminas y el producto de la degradación de aminoácidos produce un aumento del pH por encima de 6.4-6.5 (Babuskin et al., 2014; Villalobos-Delgado et al., 2020). Por su parte, la Norma Oficial Mexicana, NOM-034-SSA1-1993 (Secretaría de Salud, 1993) reporta que el pH máximo permitido en carne molida y carne molida moldeada es de 6.5–6.8., observándose que los extractos con cáscara de mango se encuentran por debajo de dicho límite.

Por otro lado, en la Tabla 12, se muestra el efecto de los extractos de cáscara de mango sobre la oxidación lipídica en carne cruda durante el almacenamiento. Se puede observar

diferencia significativa ($P<0.05$) entre tratamientos a través del tiempo de almacenamiento. En general los valores de TBARS aumentaron para cada tratamiento a través del tiempo de almacenamiento. No obstante, al día 1, los tratamientos de C₂M y C₂A presentaron el contenido de MDA más bajo ($P<0.05$) con respecto al control negativo y a los controles positivos. Mientras que a los días 3 y 9, el tratamiento C₂A mostró los valores más bajos, comparados con el resto de los tratamientos ($P<0.05$). Al día 11, el CTL mostró el valor más alto (0.38 ± 0.01 mg MAD/kg carne), mientras que C₁A presentó el menor contenido de MDA con un valor de 0.21 ± 0.02 mg de MDA/kg carne.

Estos resultados podrían atribuirse a la actividad antioxidante de compuestos fenólicos presentes en la cáscara de mango, tales como mangiferina, catequinas, quercetina, kaempferol, ramnetina, antocianinas, ácidos tales como gálico, protocatéquico, elágico, ferúlico, síringico benzoico y 2-hidroxicinámico, los cuales son donantes de electrones, así como también, eliminan radicales libres, neutralizan lípidos, neutralizan o eliminan especies reactivas al oxígeno (ROS) capturando electrones desapareados de las ROS y a través de su capacidad de quelar iones metálicos (hierro y cobre) (Ajila et al., 2007; Armenteros et al., 2012; Kabir et al., 2017; Lizárraga & Hernández, 2018; Masibo & He, 2008). En el caso de la mangiferina y sus derivados, se sabe que la isomangiferina y la homomangiferina evitan la producción de radical hidroxilo debido a su capacidad de quelación de hierro en las reacciones de tipo Fenton (Imran et al., 2017). Por su parte la quercetina y el kaempferol y sus glucósidos al contener un número variable de grupos hidroxilo fenólicos, pueden disminuir o neutralizar la producción de radicales libres como aniones superóxido y por sus excelentes propiedades de quelación del hierro y otros metales de transición lo que les confieren gran capacidad antioxidante (Imran et al., 2019; Lescano et al., 2019; Siller-Sánchez et al., 2013; Vicente-Vicente et al., 2013).

Por su parte, Feiner (2006) reporta que la rancidez oxidativa inicia entre 0.4 y 0.6 mg MAD/kg carne, mientras que Lorenzo et al. (2014) reportan que, en productos cárnicos, el sabor rancio se detecta con valores de TBARS por encima de 0.6 mg de MAD/kg. Así, se puede observar que los resultados de esta investigación se encuentran por debajo de esos límites, resaltando los tratamientos a los cuales se les incorporó el extracto de cáscara de mango, concretamente los tratamientos con extracto de cáscara de mango Ataúlfo, al presentar los valores más bajos. Algunos autores tales como Bañón et al. (2007), elaboraron carne para hamburguesas de bovino con extractos de semilla de uva y té verde, encontrando valores de 0.60 ± 0.33 y 0.47 ± 0.40 mg MAD/kg carne, respectivamente. La carne se almacenó durante 9 días a 4 °C.

Por otra parte, Pateiro et al. (2018), reportaron valores de TBARS menores a 0.20 mg MAD/kg en carne para hamburguesas de cerdo tratadas con extractos de semilla de guarana, al día 11 de almacenamiento. Dichos resultados se encuentran ligeramente por debajo de los resultados obtenidos de los tratamientos C₁M, C₂M y C₁A de esta investigación. Asimismo, Turgut et al. (2016) reportan un intervalo de 0.5 a 0.7 mg MAD/kg carne, en albóndigas de bovino crudas tratadas con extractos de cáscara de granada, almacenadas durante 8 días, a 4 °C. Estos valores se encuentran por encima de los resultados obtenidos en esta investigación.

Por último, se puede observar (Tabla 12) que el contenido de metamioglobina (%) no mostró diferencia significativa ($P>0.05$) entre tratamientos ni a través del tiempo de almacenamiento para cada tratamiento. Sin embargo, al día 11 de almacenamiento, se puede observar que el contenido de metamioglobina en los tratamientos C₁M, C₂M, C₁A y C₂A, osciló entre 19.51±6.40 y 25.67±10.96%. Dichos valores se encuentran por debajo de lo reportado por AMSA (2012), Lawrie & Ledward (2014) y Lorenzo et al. (2014), quienes mencionan que a valores de 40 a 60% se detecta visualmente el color marrón, producido por el incremento en la producción de metamioglobina, lo cual causa el rechazo de la carne por parte de los consumidores.

Tabla 12. Efecto de la incorporación del extracto de cáscara de mango Ataúlfo y Manila sobre el pH, TBARS (mg de MAD/kg carne) y el contenido de metamioglobina (MM%) en carne para hamburguesas crudas almacenadas a 4±1 °C.

	DÍAS	CTL	C ₁ M	C ₂ M	C ₁ A	C ₂ A	ASC	BHT
pH	1	6.04 ± 0.16 ^{a,B}	6.01 ± 0.16 ^{a,B}	6.02 ± 0.16 ^{a,C}	6.01 ± 0.16 ^{a,A}	6.03 ± 0.15 ^{a,A}	6.03 ± 0.14 ^{a,A}	6.00 ± 0.17 ^{a,A}
	3	6.06 ± 0.13 ^{a,B}	5.98 ± 0.18 ^{a,B}	6.00 ± 0.15 ^{a,C}	5.99 ± 0.14 ^{a,A}	6.00 ± 0.16 ^{a,A}	6.03 ± 0.14 ^{a,A}	6.05 ± 0.17 ^{a,A}
	6	6.19 ± 0.01 ^{a,B}	6.19 ± 0.06 ^{a,B}	6.12 ± 0.08 ^{a,B,C}	5.97 ± 0.14 ^{a,A}	5.99 ± 0.15 ^{a,A}	6.05 ± 0.16 ^{a,A}	6.04 ± 0.16 ^{a,A}
	9	6.98 ± 0.16 ^{a,A}	6.58 ± 0.06 ^{a,b,A}	6.42 ± 0.04 ^{b,B}	6.24 ± 0.16 ^{b,A}	6.10 ± 0.16 ^{b,A}	6.19 ± 0.26 ^{b,A}	6.15 ± 0.15 ^{a,A}
	11	7.13 ± 0.12 ^{a,A}	6.90 ± 0.15 ^{a,A}	6.79 ± 0.14 ^{a,A}	6.35 ± 0.14 ^{b,A}	6.30 ± 0.14 ^{b,A}	6.03 ± 0.14 ^{b,A}	6.40 ± 0.04 ^{b,A}
TBARS	1	0.17 ± 0.01 ^{a,b,C}	0.12 ± 0.01 ^{b,c,B}	0.04 ± 0.01 ^{d,D}	0.14 ± 0.03 ^{b,A}	0.09 ± 0.03 ^{c,d,B}	0.16 ± 0.01 ^{a,b,C}	0.19 ± 0.00 ^{a,B}
	3	0.23 ± 0.01 ^{a,B}	0.16 ± 0.02 ^{a,b,c,A,B}	0.12 ± 0.01 ^{b,c,C}	0.17 ± 0.03 ^{a,b,c,A}	0.11 ± 0.01 ^{c,B}	0.20 ± 0.04 ^{a,b,B,C}	0.17 ± 0.02 ^{a,b,c,B}
	6	0.34 ± 0.02 ^{a,A}	0.17 ± 0.02 ^{b,A,B}	0.15 ± 0.03 ^{b,B,C}	0.16 ± 0.03 ^{b,A}	0.14 ± 0.04 ^{b,B}	0.20 ± 0.01 ^{b,B,C}	0.20 ± 0.03 ^{b,B}
	9	0.25 ± 0.02 ^{a,B}	0.21 ± 0.02 ^{a,b,A}	0.20 ± 0.01 ^{a,b,A,B}	0.17 ± 0.01 ^{b,A}	0.10 ± 0.01 ^{c,B}	0.25 ± 0.02 ^{a,B}	0.22 ± 0.04 ^{a,b,B}
	11	0.38 ± 0.01 ^{a,A}	0.23 ± 0.03 ^{b,c,A}	0.23 ± 0.04 ^{b,c,A}	0.21 ± 0.02 ^{c,A}	0.26 ± 0.05 ^{b,c,A}	0.33 ± 0.02 ^{a,b,A}	0.32 ± 0.03 ^{a,b,A}
Mb (%)	1	17.01 ± 5.74 ^{a,A}	14.88 ± 4.72 ^{a,A}	21.86 ± 9.03 ^{a,A}	13.46 ± 4.26 ^{a,A}	15.37 ± 4.96 ^{a,A}	13.98 ± 4.44 ^{a,A}	18.73 ± 6.10 ^{a,A}
	3	25.51 ± 9.13 ^{a,A}	23.50 ± 8.81 ^{a,A}	19.20 ± 6.81 ^{a,A}	12.84 ± 4.07 ^{a,A}	12.88 ± 4.08 ^{a,A}	13.97 ± 6.03 ^{a,A}	15.47 ± 5.18 ^{a,A}
	6	16.89 ± 5.50 ^{a,A}	24.40 ± 8.17 ^{a,A}	25.59 ± 8.46 ^{a,A}	17.52 ± 5.55 ^{a,A}	19.72 ± 7.27 ^{a,A}	21.73 ± 7.31 ^{a,A}	21.58 ± 7.39 ^{a,A}
	9	17.54 ± 5.94 ^{a,A}	11.93 ± 3.85 ^{a,A}	14.63 ± 5.07 ^{a,A}	27.44 ± 9.40 ^{a,A}	28.75 ± 10.57 ^{a,A}	14.11 ± 5.06 ^{a,A}	29.97 ± 10.74 ^{a,A}
	11	16.06 ± 5.35 ^{a,A}	19.51 ± 6.40 ^{a,A}	20.23 ± 6.43 ^{a,A}	23.62 ± 7.93 ^{a,A}	25.67 ± 10.96 ^{a,A}	20.58 ± 6.69 ^{a,A}	23.62 ± 7.51 ^{a,A}

Los valores son la media ± error estándar.

CTL: carne sin la incorporación de extractos (control negativo)

C₁A: carne con extracto de cáscara de mango Ataúlfo a una concentración de 1 g/kg carne

C₂A: carne con extracto de cáscara de mango Ataúlfo a una concentración de 2 g/kg carne

C₁M: carne con extracto de cáscara de mango Manila a una concentración de 1 g/kg carne

C₂M: carne con extracto de cáscara de mango Manila a una concentración de 2 g/kg carne

ASC: carne con una solución de ascorbato de sodio (control positivo)

BHT: carne con butil-hidroxi-tolueno al 0.02% (control positivo)

^{a,b,c}: Medias en la misma fila y en la misma sección con diferente literal son estadísticamente diferentes ($P < 0.05$; Prueba de Duncan).

^{A,B,C,D}: Medias en la misma columna y en la misma sección con diferente literal son estadísticamente diferentes ($P < 0.05$; Prueba de Duncan).

9.5.2 Efecto de la incorporación de cáscara de mango sobre las variables de color instrumental en carne para hamburguesas crudas.

En la Tabla 13, se muestran los cambios en los valores del color instrumental sobre la carne cruda de bovino, con y sin extractos de cáscara de mango de ambas variedades. La mayoría de las variables, muestran diferencia significativa ($P < 0.05$) a través del tiempo de almacenamiento.

Con respecto a la variable L , durante los días 1, 3 y 11 de almacenamiento, no hubo diferencia significativa ($P > 0.05$) entre tratamientos. No obstante, durante los días 6 y 9 si hubo diferencia ($P < 0.05$) entre tratamientos. Se puede observar que al día 6, C_1M y C_1A , fueron los tratamientos con la incorporación de cáscara de mango, que presentaron una tonalidad más clara, al mostrar los valores más altos en L^* . Mientras que para el día 9, el tratamiento C_2A mostró una tonalidad más clara. Por otra parte, a través del tiempo de almacenamiento, los valores de L^* disminuyeron en los tratamientos CTL, C_2M y BHT, mientras que C_1M , C_1A , C_2A y ASC no mostraron diferencias significativas.

Para la variable a^* , al día 1, se puede observar que los tratamientos con cáscara de mango de ambas variedades a sus dos concentraciones y el control positivo ASC, presentaron los valores más altos (rango de 8.10 ± 0.35 a 9.56 ± 0.34) que el CTL y BHT, siendo el tratamiento C_1A quien presentó el mayor valor ($P < 0.05$) de todos los tratamientos. Mientras que al día 3, se puede observar que C_2A y C_1A presentaron valores similares a los controles positivos. Al término de los días de almacenamiento, nuevamente los tratamientos C_1A y C_2A mostraron el valor más alto en a^* , con respecto al CTL, quien presentó el valor más bajo de entre todos los tratamientos. Además, dichos tratamientos presentaron valores similares a los tratamientos ASC y BHT.

El color de la carne fresca (enrojecimiento) es el principal atributo que influye en la decisión de compra, dado que el consumidor asocia el color con el grado de frescura y calidad. Por lo que, los estudios sobre el color de la carne evaluado instrumentalmente, se centran en el valor de a^* (enrojecimiento) (Mancini & Hunt, 2005; Shah et al., 2014). Así, los resultados que se muestran en esta investigación, sugieren considerar el empleo de extractos de cáscara de mango de la variedad Ataúlfo y Manila en carne cruda de bovino, para lograr una estabilidad del color rojo durante su almacenamiento. Por otra parte, la reducción en la intensidad del color rojo durante el almacenamiento, podría estar relacionada con la interdependencia entre la oxidación de los lípidos y la oxidación del color en la carne. Por lo que la oxidación del pigmento puede catalizar la oxidación lipídica, y los radicales libres producidos durante la oxidación lipídica pueden oxidar los

átomos de hierro o desnaturalizar las moléculas de mioglobina, cambiando negativamente el color (marrón) de los productos (Babuskin et al., 2014; Chaijan, 2008; Faustman et al., 2010).

En relación a la variable b^* , se observa que durante los días de almacenamiento 1, 3, 6 y 9, se observan diferencias significativas ($P<0.05$) entre tratamientos, mientras que, al término del periodo de almacenamiento (día 11), no hubo diferencia entre tratamientos. Se observa que al día 1, los tratamientos que presentaron el valor más alto de b^* fueron C₂M y C₂A con valores de 13.29 ± 0.40 y 13.74 ± 0.58 , respectivamente. Para el día 3, C₁M y C₂A mostraron valores muy similares a los controles positivos de ASC y BHT, siendo estos cuatro tratamientos, los del valor más alto en b^* . Así mismo, para los días 6 y 9 de almacenamiento, los tratamientos C₁M, C₂M y C₂A, presentaron los valores más altos en b^* , con respecto al CTL. De los tratamientos incorporados con extractos de cáscara de mango, C₂A presentó el valor más alto de b^* , con respecto al CTL, esto al término del tiempo del almacenamiento.

Salueña et al. (2019) reportan que a medida que se va oxidando la carne, tanto el parámetro de a^* y b^* disminuyen, es decir hay un menor enrojecimiento. Lo que sugiere que los tratamientos con extracto de cáscara de mango presentaron mayor enrojecimiento al presentar menor oxidación lipídica en las hamburguesas crudas. Por otro lado, los tratamientos CTL, C₂M, C₁A, C₂A y BHT presentaron una disminución ($P<0.05$) del valor de b^* a través del tiempo. Autores como Tapp et al. (2012) reportan valores de a^* y b^* de 13 a 16 y 15 a 18, respectivamente; en muestras de carne para hamburguesas tratadas con extracto de puré de noni. Así mismo, Fernández-López et al. (2005) reportan un intervalo de 41.57 a 44.73 y 8.78 a 10.34 para valores de a^* y b^* , respectivamente, en albóndigas de bovino crudas tratadas con extractos de subproductos de limón y naranja, almacenadas durante 12 días a 8 °C.

Por otra parte, AMSA (2012) reporta que a valores altos de la variable a^*/b^* , significa un mayor enrojecimiento en la carne. Se observa que, al día 1 y 3, C₁A presentó valores de 0.75 ± 0.03 y 0.72 ± 0.02 , respectivamente. Siendo este tratamiento el del valor más alto y por ende el cual presentó mayor enrojecimiento. Para los días 6 y 9, el CTL, C₂M, C₁A, C₂A y ASC, mostraron los valores más altos ($P<0.05$) de a^*/b^* . Mientras que al día 11, C₂M, C₁A, C₂A y los controles positivos de ASC y BHT, presentaron los valores más altos con respecto al CTL, el cual presentó el valor más bajo, como era de esperarse. Esto podría atribuirse a la oxidación gradual de la mioglobina a metamioglobina, que da como

consecuencia la decoloración del color rojo a marrón en las carnes rojas (Faustman et al., 2010).

Con respecto al valor de croma, al día 1, C₂M, C₁A y C₂A fueron los tratamientos con mayor intensidad del color rojo al presentar valores de 15.99 ± 0.51 , 15.97 ± 0.41 y 16.40 ± 0.61 , respectivamente. Mientras que al día 3, C₂A fue el tratamiento que presentó mayor intensidad en el color rojo de la carne con respecto al resto de los tratamientos, al mostrar un valor de 15.60 ± 0.55 . No obstante, al día 6, los controles de ASC y BHT fueron los tratamientos que presentaron la mayor intensidad del color rojo. Por otra parte, aunque los tratamientos con extractos de cáscara de mango no mostraron diferencias significativas ($P>0.05$) entre ellos, se observa que nuevamente C₂A fue el que presentó el mayor valor en la saturación. Durante el día 9, el valor más alto lo presentó C₁M, C₂M, C₂A y ASC. Al día 11, no hubo diferencias significativas ($P>0.05$) entre los tratamientos. Por otra parte, a través del tiempo de almacenamiento, se observa la disminución ($P<0.05$) de los valores de croma en todos los tratamientos.

Para la variable de tono (Hue), según AMSA (2012), a valores menores indican mayor enrojecimiento en las muestras de carne. A los días 1 y 3 de almacenamiento, el tratamiento C₁A, presentó el mayor enrojecimiento comparado con el resto de los tratamientos, al mostrar los valores de tono más bajos. Asimismo, al día 6, el tratamiento con menor valor en tono fue C₂A, considerando solo los tratamientos con extracto de cáscara de mango. Al día 9, el CTL, C₂M y ASC, presentaron los valores más bajos. Mientras que, al día 11, C₁A fue el tratamiento que mostró mayor enrojecimiento debido a su valor más bajo en el tono. Por otra parte, a través del tiempo de almacenamiento, se puede observar el incremento de los valores de tono para cada tratamiento. No obstante, en el último día, C₁A presentó el valor más bajo.

Estos resultados podrían atribuirse a la oxidación gradual de la mioglobina y/o oximioglobina (hierro ferroso) y la acumulación de metamioglobina (hierro férrico) con el tiempo (Villalobos-Delgado et al., 2020). AMSA (2012) reporta que los valores de a^* entre más altos, mayor es el enrojecimiento. Mientras que entre más grandes sean los valores del tono, mayor es la decoloración, lo que indica la presencia de metamioglobina. Por lo que, los tratamientos C₁A y C₂A, fueron los tratamientos que mostraron al día 11, el mejor valor de a^* y tono, al ser los tratamientos que presentaron mayor enrojecimiento con valores de 5.20 ± 0.47 y 62.54 ± 1.98 para C₁A y valores de 5.34 ± 0.22 y 63.82 ± 1.15 para C₂A, respectivamente. Dichos valores coinciden con el bajo contenido de MAD que presentaron cada uno de los tratamientos al término del almacenamiento. Bañón et al.

(2007) prepararon carne para hamburguesas de bovino con extractos de semilla de uva y té verde. Los autores reportaron un intervalo de la variable croma de 11.7 ± 2.05 a 15.8 ± 3.01 y un intervalo de tono de 37.8 ± 15.0 a 26.0 ± 7.67 .

Finalmente, en la Tabla 13, se observa que para la variable de ΔE , todos los tratamientos mostraron valores por encima de 2.0, valor considerado como el límite para apreciar los cambios visuales en el color (Lorenzo et al., 2014). No obstante, el tratamiento C₂A presentó un valor de 20.76 ± 4.16 , siendo este, el valor más bajo de ΔE^* considerando los tratamientos con extracto de cáscara de mango. Esto se podría atribuir a una mayor estabilidad oxidativa debido al mayor contenido de compuestos polifenólicos presentes en el extracto de cáscara de mango Ataúlfo, presentando menos cambios en el color durante el almacenamiento. Otros autores afirman que, a mayor cantidad de antioxidante natural agregado al producto cárnico, menor es el valor de ΔE^* (Pateiro et al., 2018).

Tabla 13. Efecto de la incorporación de extractos de cáscara de mango de la variedad Ataúlfo y Manila sobre el color en carne para hamburguesas crudas almacenadas a 4±1 °C durante 11 días de almacenamiento.

	DÍAS	CTL	C ₁ M	C ₂ M	C ₁ A	C ₂ A	ASC	BHT
L	1	52.11 ± 0.52 ^{a,A}	49.10 ± 0.60 ^{a,A}	50.34 ± 0.68 ^{a,A}	50.17 ± 0.54 ^{a,A}	51.26 ± 1.35 ^{a,A}	51.21 ± 0.74 ^{a,A}	51.49 ± 1.22 ^{a,A,B}
	3	50.97 ± 0.72 ^{a,A}	50.14 ± 0.67 ^{a,A}	50.24 ± 0.40 ^{a,A}	50.10 ± 0.85 ^{a,A}	49.57 ± 0.76 ^{a,A}	50.54 ± 0.58 ^{a,A}	50.71 ± 0.71 ^{a,B}
	6	48.08 ± 0.70 ^{c,B}	51.23 ± 1.48 ^{a,b,A}	49.15 ± 0.73 ^{b,c,A}	51.05 ± 0.52 ^{a,b,A}	50.74 ± 0.58 ^{a,b,A}	52.14 ± 0.71 ^{a,A}	50.29 ± 0.78 ^{a,b,c,B}
	9	45.41 ± 0.84 ^{d,C}	49.16 ± 1.62 ^{b,c,d,A}	46.81 ± 0.95 ^{c,d,B}	49.68 ± 1.13 ^{b,c,A}	51.48 ± 1.38 ^{a,b,A}	50.82 ± 0.56 ^{a,b,A}	54.52 ± 1.96 ^{a,A}
	11	51.15 ± 1.20 ^{a,A}	50.17 ± 1.38 ^{a,A}	48.45 ± 0.65 ^{a,A,B}	49.11 ± 1.53 ^{a,A}	49.69 ± 1.03 ^{a,A}	51.21 ± 1.05 ^{a,A}	48.47 ± 0.52 ^{a,B}
a*	1	6.10 ± 0.58 ^{b,A}	8.69 ± 0.71 ^{a,A}	8.88 ± 0.39 ^{a,A}	9.56 ± 0.34 ^{a,A}	8.84 ± 0.51 ^{a,A}	8.10 ± 0.35 ^{a,b,A}	6.74 ± 0.53 ^{b,A}
	3	5.10 ± 0.14 ^{c,A}	7.19 ± 0.41 ^{b,c,B}	7.26 ± 0.43 ^{b,c,B}	8.40 ± 0.34 ^{a,b,B}	9.03 ± 0.38 ^{a,A}	8.03 ± 0.97 ^{a,b,A}	7.97 ± 0.46 ^{a,b,A}
	6	6.60 ± 0.64 ^{a,b,A}	5.49 ± 0.36 ^{b,C}	6.01 ± 0.25 ^{b,B}	6.12 ± 0.53 ^{a,b,C}	6.36 ± 0.39 ^{a,b,B}	7.75 ± 0.85 ^{a,A}	6.87 ± 0.35 ^{a,b,A}
	9	5.94 ± 0.38 ^{a,b,A}	4.33 ± 0.46 ^{c,C,D}	6.84 ± 0.62 ^{a,B}	4.95 ± 0.18 ^{b,c,D}	5.96 ± 0.46 ^{a,b,B}	6.91 ± 0.27 ^{a,A,B}	4.79 ± 0.63 ^{b,c,B}
	11	3.22 ± 0.30 ^{c,B}	3.67 ± 0.38 ^{b,c,D}	4.57 ± 0.44 ^{a,b,C}	5.20 ± 0.47 ^{a,C,D}	5.34 ± 0.22 ^{a,B}	5.40 ± 0.49 ^{a,B}	5.06 ± 0.39 ^{a,B}
b*	1	12.49 ± 0.69 ^{a,b,A}	12.63 ± 0.46 ^{a,b,A}	13.29 ± 0.40 ^{a,A}	12.77 ± 0.34 ^{a,b,A}	13.74 ± 0.58 ^{a,A}	12.62 ± 0.65 ^{a,b,A}	11.47 ± 0.56 ^{b,A}
	3	11.43 ± 0.30 ^{b,A,B}	12.07 ± 0.25 ^{a,b,A}	11.63 ± 0.47 ^{b,B}	11.70 ± 0.41 ^{b,A,B}	13.02 ± 0.44 ^{a,A,B}	12.42 ± 0.60 ^{a,b,A}	12.47 ± 0.32 ^{a,b,A}
	6	10.43 ± 0.63 ^{b,B,C}	11.28 ± 0.45 ^{a,b,A}	11.40 ± 0.39 ^{a,b,B,C}	11.10 ± 0.35 ^{b,B,C}	11.22 ± 0.35 ^{a,b,C}	12.72 ± 0.75 ^{a,A}	11.73 ± 0.46 ^{a,b,A}
	9	9.49 ± 0.46 ^{b,C}	11.94 ± 0.66 ^{a,A}	11.31 ± 0.47 ^{a,B,C}	9.92 ± 0.41 ^{b,C}	11.74 ± 0.38 ^{a,B,C}	12.08 ± 0.45 ^{a,A}	11.37 ± 0.40 ^{a,A,B}
	11	11.77 ± 0.85 ^{a,A,B}	10.87 ± 0.96 ^{a,A}	10.16 ± 0.57 ^{a,C}	9.95 ± 0.45 ^{a,C}	11.01 ± 0.61 ^{a,C}	10.98 ± 0.30 ^{a,A}	10.14 ± 0.39 ^{a,B}
a*/b*	1	0.55 ± 0.02 ^{c,A}	0.68 ± 0.04 ^{a,b,A}	0.67 ± 0.02 ^{a,b,A}	0.75 ± 0.03 ^{a,A}	0.65 ± 0.04 ^{b,A,B}	0.65 ± 0.02 ^{b,A}	0.59 ± 0.04 ^{b,c,A,B}
	3	0.53 ± 0.02 ^{d,A}	0.60 ± 0.03 ^{c,d,A,B}	0.62 ± 0.02 ^{b,c,A,B}	0.72 ± 0.02 ^{a,A}	0.69 ± 0.02 ^{a,b,A}	0.63 ± 0.05 ^{b,c,A,B}	0.64 ± 0.03 ^{a,b,c,A}
	6	0.63 ± 0.04 ^{a,A}	0.50 ± 0.04 ^{b,B,C}	0.53 ± 0.02 ^{a,b,B,C}	0.55 ± 0.04 ^{a,b,B}	0.57 ± 0.03 ^{a,b,B,C}	0.60 ± 0.05 ^{a,b,A,B}	0.59 ± 0.03 ^{a,b,A,B}
	9	0.65 ± 0.07 ^{a,A}	0.38 ± 0.05 ^{c,C}	0.61 ± 0.05 ^{a,b,A,B}	0.50 ± 0.02 ^{b,c,B}	0.51 ± 0.04 ^{a,b,c,C}	0.58 ± 0.02 ^{a,b,A,B}	0.41 ± 0.05 ^{c,C}
	11	0.28 ± 0.03 ^{c,B}	0.38 ± 0.06 ^{b,c,C}	0.46 ± 0.04 ^{a,b,C}	0.53 ± 0.04 ^{a,B}	0.49 ± 0.03 ^{a,b,C}	0.50 ± 0.06 ^{a,b,B}	0.50 ± 0.03 ^{a,b,B,C}
	1	14.34 ± 0.87 ^{a,b,A}	15.38 ± 0.74 ^{a,b,A}	15.99 ± 0.51 ^{a,A}	15.97 ± 0.41 ^{a,A}	16.40 ± 0.61 ^{a,A}	15.01 ± 0.71 ^{a,b,A}	13.35 ± 0.67 ^{b,A,B}
	3	12.93 ± 0.26 ^{c,A,B}	14.07 ± 0.37 ^{a,b,c,A,B}	13.72 ± 0.61 ^{b,c,B}	14.42 ± 0.48 ^{a,b,c,B}	15.60 ± 0.55 ^{a,A}	14.87 ± 1.01 ^{a,b,A}	14.83 ± 0.45 ^{a,b,A}

Croma	6	12.38 ± 0.82 ^{b,A,B}	12.61 ± 0.39 ^{b,B,C}	12.91 ± 0.41 ^{b,B}	12.74 ± 0.49 ^{b,C}	12.92 ± 0.45 ^{b,B}	14.98 ± 1.00 ^{a,A}	13.63 ± 0.48 ^{a,b,A,B}
	9	11.29 ± 0.35 ^{b,B}	12.81 ± 0.57 ^{a,B,C}	13.32 ± 0.58 ^{a,B}	11.11 ± 0.42 ^{b,D}	12.88 ± 0.56 ^{a,B}	13.93 ± 0.47 ^{a,A,B}	12.43 ± 0.54 ^{a,b,B,C}
	11	12.24 ± 0.83 ^{a,A,B}	11.62 ± 0.84 ^{a,C}	11.21 ± 0.60 ^{a,C}	11.29 ± 0.52 ^{a,D}	12.26 ± 0.61 ^{a,B}	12.34 ± 0.23 ^{a,B}	11.37 ± 0.47 ^{a,C}
Tono	1	61.13 ± 0.97 ^{a,B}	56.00 ± 1.56 ^{b,c,C}	56.32 ± 0.79 ^{b,c,C}	53.22 ± 0.91 ^{c,B}	57.21 ± 1.60 ^{b,B,C}	57.19 ± 0.90 ^{b,B}	59.73 ± 1.57 ^{a,b,B,C}
	3	62.22 ± 0.90 ^{a,B}	59.40 ± 1.21 ^{a,b,B,C}	58.19 ± 0.8 ^{b,c,B,C}	54.36 ± 0.88 ^{d,B}	55.28 ± 0.71 ^{c,d,C}	58.31 ± 2.07 ^{b,c,A,B}	57.59 ± 1.29 ^{b,c,d,C}
	6	57.93 ± 1.58 ^{b,B}	63.87 ± 1.88 ^{a,A,B}	62.15 ± 0.95 ^{a,b,A,B}	61.52 ± 1.85 ^{a,b,A}	60.65 ± 1.16 ^{a,b,A,B}	59.29 ± 2.08 ^{a,b,A,B}	59.62 ± 1.35 ^{a,b,B,C}
	9	57.71 ± 2.51 ^{c,B}	69.48 ± 2.47 ^{a,A}	59.03 ± 2.26 ^{c,B,C}	63.43 ± 0.74 ^{b,c,A}	62.40 ± 1.72 ^{b,c,A}	60.17 ± 0.97 ^{c,A,B}	68.03 ± 2.61 ^{a,b,A}
	11	74.30 ± 1.66 ^{a,A}	69.76 ± 2.91 ^{a,b,A}	65.55 ± 3.04 ^{b,c,A}	62.54 ± 1.98 ^{c,A}	63.82 ± 1.15 ^{b,c,A}	63.85 ± 2.47 ^{b,c,A}	63.81 ± 1.53 ^{b,c,A,B}
ΔE		21.39 ± 5.95 ^{a,b}	28.29 ± 6.84 ^{a,b}	23.26 ± 4.68 ^{a,b}	33.15 ± 8.76 ^a	20.76 ± 4.16 ^{a,b}	12.89 ± 2.40 ^b	16.78 ± 5.31 ^{a,b}

Los valores son la media ± error estándar.

CTL: carne sin la incorporación de extractos (control negativo)

C₁A: carne con extracto de cáscara de mango Ataúlfo a una concentración de 1 g/kg carne

C₂A: carne con extracto de cáscara de mango Ataúlfo a una concentración de 2 g/kg carne

C₁M: carne con extracto de cáscara de mango Manila a una concentración de 1 g/kg carne

C₂M: carne con extracto de cáscara de mango Manila a una concentración de 2 g/kg carne

ASC: carne con una solución de ascorbato de sodio (control positivo)

BHT: carne con butil-hidroxi-tolueno al 0.02% (control positivo)

^{a,b,c,d}: Medias en la misma fila y en la misma sección con diferente literal son estadísticamente diferentes ($P < 0.05$; Prueba de Duncan).

^{A,B,C,D}: Medias en la misma columna y en la misma sección con diferente literal son estadísticamente diferentes ($P < 0.05$; Prueba de Duncan).

9.5.3 Efecto de la incorporación de cáscara de mango sobre el pH y TBARS en carne para hamburguesas crudas-cocidas.

En la Tabla 14, se muestran los resultados del efecto de la incorporación de extractos de cáscara de mango de la variedad Ataúlfo y Manila sobre el pH y las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) en carne de bovino cruda-cocida. Se puede observar que ambas variables mostraron diferencias significativas ($P < 0.05$) considerando el tratamiento y los días de almacenamiento. Se observa que a través del tiempo de almacenamiento existe un incremento ($P < 0.05$) del valor de pH para cada tratamiento. Al día 11, el valor de pH de C₂A fue el más bajo comparándolo con el resto de los tratamientos con extracto de cáscara de mango. Hollenbeck et al. (2019) informaron que los valores de pH de la carne molida de res aumentan después de la cocción a 71 °C. En todos los tratamientos de esta investigación el proceso de cocción aumentó el pH de la carne, probablemente debido a la descomposición del tampón celular y la grasa libre (Schweigert, 1994), así como el crecimiento microbiano en la carne, antes del cocimiento.

Para los valores de TBARS, la cocción y el período de almacenamiento tuvo una influencia en el desarrollo de la oxidación de lípidos en carne de bovino cruda-cocida, lo que resultó en un aumento de los valores de TBARS. Al día 1, el tratamiento C₂A presentó el menor contenido de TBARS con un valor de 0.20 ± 0.02 mg MAD/kg carne. Para el día 3, los tratamientos con extracto de cáscara de mango mostraron un rango de 0.19 a 0.21 mg MAD/kg carne. Por otra parte, se observa que el día 6, no hubo diferencias significativas ($P > 0.05$) entre tratamientos. No obstante, al día 9, C₂A fue el tratamiento con menor contenido de TBARS con respecto al resto de los tratamientos. De la misma manera, para el día 11, C₂A con un valor de 0.16 ± 0.03 mg MAD/kg carne fue el tratamiento que presentó el menor contenido de MAD en carne. Esto sugiere que los polifenoles presentes en las cáscaras de mango retrasan la oxidación lipídica durante la cocción. Asimismo, a los 11 días de almacenamiento, el contenido de MAD en el control positivo ASC, mostró valores muy altos de TBARS, por lo que se pudiera considerar que actuó como prooxidante. El ascorbato puede reducir el Fe³⁺ hemático, reaccionar e inhibir la formación de radicales libres, pero también formar las especies prooxidativas, Fe²⁺ y Cu⁺ (Bañón et al., 2007). Por su parte, Utrera et al. (2014) y Villalobos-Delgado et al. (2020), reportaron que después de la cocción a 72 °C, la exposición al oxígeno junto con la deshidratación y la posterior alteración del tejido causado por la cocción, interrumpen la organización celular y favorece la interacción entre prooxidantes (metales y pigmentos heme) y ácidos grasos insaturados, lo que estaría provocando el aumento de los TBARS.

Asimismo, autores como Alnoumani et al. (2017) reportan valores de 0.24 mg MAD/kg carne, en carne molida cocida de bovino tratada con extractos de romero y champiñón (*Agaricus bisporus*), al día 10 de almacenamiento a 4 °C. Ahn et al. (2002) reporta un intervalo de 1.24 ± 0.07 a 4.43 ± 0.03 mg MAD/kg carne, en carne molida de bovino tratada con antioxidantes naturales (semilla de uva, extracto de corteza de pino y oleorresina de romero), durante 3 días de almacenamiento, a 4 °C. Los resultados que presentan dichos autores se encuentran muy por encima de los resultados obtenidos en esta investigación. También Dejong & Lanari, (2009) reportan valores de 0.2 a 0.6 mg MAD/kg carne, en carne para hamburguesas tratadas con extractos de orujo (subproducto con pulpa, cáscara y hueso) de aceituna y cáscara de uva almacenadas durante 6 días a 4 °C. Asimismo, los resultados reportados por Dejong & Lanari. (2009) se encuentran dentro del rango (0.16 a 1.01 mg MAD/kg carne) de los resultados obtenidos en esta investigación. Otros autores reportan valores de 0.60 ± 0.06 a 2.32 ± 0.15 mg MAD/kg carne, en carne molida cocida de bovino tratada con extractos naturales (semilla de uva, corteza de pino, té verde) durante el almacenamiento (9 días) a 4 °C (Ahn et al., 2007; Bañón et al., 2007).

Por otro lado, AMSA (2012) reporta que los valores de TBARS superiores a 1.0 mg MAD/kg carne generalmente se asocian con el olor y sabores oxidados, los cuales son detectables en las muestras de carne cocida, mientras que otros autores informaron que a un valor de TBARS de aproximadamente 2.0 mg MAD/kg carne, puede considerarse como el límite del umbral para la aceptabilidad de la carne oxidada de bovino (Campo et al., 2006; Villalobos-Delgado et al., 2020).

Tabla 14. Efecto de extractos de cáscara de mango de ambas variedades sobre el pH y TBARS (mg de MAD/kg carne) en carne para hamburguesas crudas-cocidas almacenadas a 4±1 °C.

	DÍAS	CTL	C ₁ M	C ₂ M	C ₁ A	C ₂ A	ASC	BHT
pH	1	5.81 ± 0.07 ^{b,D}	6.29 ± 0.16 ^{a,b,C}	6.25 ± 0.14 ^{a,B}	6.27 ± 0.13 ^{a,C}	6.27 ± 0.15 ^{a,A}	6.29 ± 0.15 ^{a,A}	6.25 ± 0.14 ^{a,A}
	3	6.40 ± 0.06 ^{a,C}	6.25 ± 0.14 ^{a,c}	6.33 ± 0.09 ^{a,B}	6.26 ± 0.13 ^{a,C}	6.24 ± 0.14 ^{a,A}	6.24 ± 0.14 ^{a,A}	6.24 ± 0.14 ^{a,A}
	6	6.88 ± 0.17 ^{a,B}	6.51 ± 0.02 ^{b,B,C}	6.52 ± 0.03 ^{b,B}	6.23 ± 0.09 ^{b,C}	6.48 ± 0.01 ^{b,A}	6.32 ± 0.13 ^{b,A}	6.25 ± 0.11 ^{b,A}
	9	7.07 ± 0.17 ^{a,A,B}	6.84 ± 0.16 ^{a,b,A,B}	6.94 ± 0.22 ^{a,A}	6.86 ± 0.14 ^{a,b,B}	6.34 ± 0.06 ^{c,A}	6.34 ± 0.21 ^{c,A}	6.40 ± 0.08 ^{b,c,A}
	11	7.48 ± 0.23 ^{a,b,A}	7.20 ± 0.20 ^{a,A}	7.20 ± 0.16 ^{a,A}	7.22 ± 0.09 ^{a,A}	6.39 ± 0.17 ^{a,b,A}	5.82 ± 1.04 ^{b,A}	6.58 ± 0.08 ^{a,b,A}
TBARS	1	0.37 ± 0.02 ^{a,b,A}	0.24 ± 0.03 ^{b,c,A}	0.25 ± 0.03 ^{a,b,c,A}	0.28 ± 0.05 ^{a,b,c,A}	0.20 ± 0.02 ^{c,A,B}	0.41 ± 0.11 ^{a,A,B}	0.36 ± 0.04 ^{a,b,c,A,B}
	3	0.35 ± 0.01 ^{a,b,A}	0.21 ± 0.03 ^{b,A}	0.19 ± 0.02 ^{b,A}	0.19 ± 0.01 ^{b,A}	0.21 ± 0.04 ^{b,A,B}	0.58 ± 0.25 ^{a,A,B}	0.31 ± 0.05 ^{a,b,A,B}
	6	0.40 ± 0.02 ^{a,A}	0.31 ± 0.06 ^{a,A}	0.27 ± 0.07 ^{a,A}	0.25 ± 0.03 ^{a,A}	0.28 ± 0.06 ^{a,A}	0.46 ± 0.13 ^{a,A,B}	0.31 ± 0.07 ^{a,A,B}
	9	0.35 ± 0.05 ^{a,A}	0.19 ± 0.0 ^{b,A}	0.19 ± 0.02 ^{b,A}	0.19 ± 0.02 ^{b,A}	0.11 ± 0.01 ^{c,B}	0.24 ± 0.03 ^{b,B}	0.21 ± 0.03 ^{b,B}
	11	0.41 ± 0.02 ^{b,A}	0.30 ± 0.06 ^{b,A}	0.23 ± 0.06 ^{b,A}	0.25 ± 0.06 ^{b,A}	0.16 ± 0.03 ^{b,A,B}	1.01 ± 0.36 ^{a,A}	0.44 ± 0.11 ^{b,A}

Los valores son la media ± error estándar.

CTL: carne sin la incorporación de extractos (control negativo)

C₁A: carne con extracto de cáscara de mango Ataúlfo a una concentración de 1 g/kg carne

C₂A: carne con extracto de cáscara de mango Ataúlfo a una concentración de 2 g/kg carne

C₁M: carne con extracto de cáscara de mango Manila a una concentración de 1 g/kg carne

C₂M: carne con extracto de cáscara de mango Manila a una concentración de 2 g/kg carne

ASC: carne con una solución de ascorbato de sodio (control positivo)

BHT: carne con butil-hidroxi-tolueno al 0.02% (control positivo)

^{a,b,c}: Medias en la misma fila y en la misma sección con diferente literal son estadísticamente diferentes ($P < 0.05$; Prueba de Duncan).

^{A,B,C,D} Medias en la misma columna y en la misma sección con diferente literal son estadísticamente diferentes ($P < 0.05$; Prueba de Duncan).

9.5.4 Efecto de la incorporación de cáscara de mango sobre el pH y el recuento total en carne para hamburguesas crudas.

En la tabla 15, se observa el efecto de la incorporación de extractos de cáscara de mango de la variedad Ataúlfo y Manila sobre el pH y el recuento total de bacterias aeróbicas en carne para hamburguesas crudas almacenadas durante 11 días a 4 °C.

Para la variable de pH, se observa que hubo diferencia significativa ($P<0.05$) entre tratamientos y a través del tiempo de almacenamiento. Al día 1 del almacenamiento, el pH de todos los tratamientos se encontró entre 5.81 ± 0.07 a 6.29 ± 0.15 . Para el día 3 de almacenamiento, se observa que los dos tratamientos incorporados con extracto de cáscara de mango de la variedad Manila (C₁M y C₂M) mostraron valores de pH de 6.33 ± 0.01 y 6.36 ± 0.03 , respectivamente, siendo estos los valores más bajos con respecto al control. Para el día 6, el control resultó ser el tratamiento con el valor más alto de pH con un valor de 7.14 ± 0.09 con respecto al resto de los tratamientos; observándose que los tratamientos con extractos de cáscara de mango y los dos controles positivos mostraron un pH similar con valores de entre 6.76 ± 0.03 a 6.94 ± 0.05 .

Un comportamiento similar se observa para el día 9, en el cual los tratamientos con extracto de cáscara de mango y ambos controles positivos, mostraron un rango de pH entre 7.15 ± 0.08 a 7.45 ± 0.05 . Siendo estos tratamientos los que mostraron el valor de pH más bajo con respecto al control, quien tuvo un valor de 7.82 ± 0.00 . Finalmente, para el día 11, los tratamientos que mostraron el valor de pH más bajo fueron C₁M, C₂M y C₂A. También, se puede observar que los tratamientos con extracto de cáscara de mango mostraron valores de pH muy similares a los de los controles positivos de ASC y BHT. Estos valores bajos en el pH se podrían atribuir a la presencia de ácidos fenólicos presentes en la cáscara de mango, tales como ácido gálico, protocatéquico, elágico, ferúlico, siríngico benzoico y 2-hidroxicinámico (Kabir et al., 2017; Lizárraga & Hernández, 2018; Masibo & He, 2008).

No obstante, a través del tiempo de almacenamiento todos los tratamientos aumentaron significativamente los valores de pH ($P<0.05$). El aumento de pH podría atribuirse al aumento en el crecimiento microbiano. La acumulación de amoníaco y el producto de la degradación de los aminoácidos dan como resultado un aumento del pH (Andrés et al., 2017a; Radha et al., 2014). Algunos autores tales como Andrés et al. (2017b) reportan un incremento de pH de 5.62 ± 0.02 a 5.75 ± 0.02 en carne de cordero cruda tratada con extractos de subproductos de tomate durante 7 días de almacenamiento en refrigeración (2 ± 1 °C). Por su parte, Garrido et al. (2011) reportan un incremento de pH de 5.47 ± 0.02 a

5.56±0.01 en carne de cerdo cruda para hamburguesas, tratadas con extractos de subproductos de uva roja, almacenada durante 6 días a 4 °C. Otros autores también reportan un intervalo de pH de 5.65 a 5.80 en carne cruda de cerdo (para hamburguesas) tratada con extracto de semilla de uva almacenada a 2±1 °C durante 13 días (Lorenzo et al., 2014).

Por otro lado, el recuento total de bacterias aerobias no mostró diferencias significativas ($P>0.05$) entre tratamientos para los días 1, 3, 9 y 11. No obstante, al día 6, se puede observar que el tratamiento C₁A, presentó el número más bajo de UFC con valores de 5.10±0.56 log₁₀ UFC/g. Estos resultados se pueden atribuir a la posible presencia de compuestos polifenólicos en la cáscara de mango tales como mangiferina, Kaempferol, quercetina, entre otros, los cuales presentan actividad antimicrobiana. De acuerdo con su estructura química estarían actuando mediante los siguientes mecanismos: desestabilización de la membrana citoplasmática, permeabilización de la membrana celular e inhibición de enzimas microbianas extracelulares, así como interferencia directa en el metabolismo microbiano (Siller-Sánchez et al., 2013; Villalobos-Delgado et al., 2019). Cushine & Lamb (2005), informaron que se han identificado flavonoides tales como la quercetina y el kaempferol, así como sus derivados, con actividad antibacteriana. De esta manera, dichos valores al día 6, se encuentran ligeramente por debajo de los límites microbiológicos de 6-7 log₁₀ UFC/g establecidos por la ICMSF (Comisión Internacional de Especificaciones Microbianas en Alimentos) en carne fresca (ICMSF, 2004). Mientras que la Legislación Mexicana (Secretaría de Salud, México, 1993) estableció un límite máximo de 10⁶-10⁷ UFC/g de microorganismos mesófilos aerobios (6-7 log₁₀ UFC/g), para carne de bovino molida.

Se observa que los resultados obtenidos en esta investigación durante los primeros 6 días, muestran valores similares a otros estudios en carne de cordero cruda tratada con extractos de subproductos de granada (5.91±0.07 log₁₀ UFC/g), tomate (5.99±0.16 log₁₀ UFC/g) y uva (6.46±0.09 log₁₀ UFC/g), almacenada durante 7 días a 2±1 °C (Andrés et al., 2017a). Pateiro et al. (2018) reportan un comportamiento similar con valores de 8.9 a 9.1 log₁₀ UFC/g en carne de cerdo tratada con extracto de semilla de guaraná, almacenada durante 18 días a 2±1 °C. Asimismo, algunos autores como Lorenzo et al. (2014) reportan valores de 5.5 a 6 log₁₀ UFC/g en carne de cerdo adicionada con extractos de semilla de uva almacenada en refrigeración durante 15 días.

Los resultados obtenidos para el pH y recuento total de bacterias aerobias, demuestran que a partir del día 9, la carne para hamburguesa tratada con extractos de cáscara de mango no

es apta para su consumo, mientras que el CTL presenta valores fuera de norma a partir del día 6.

Tabla 15. Efecto de la adición de extractos de cáscara de mango de ambas variedades sobre el pH y el recuento total de bacterias aerobias (\log_{10} UFC/g, RTB) en carne para hamburguesas crudas almacenadas a 4 ± 1 °C.

	DÍAS	CTL	C ₁ M	C ₂ M	C ₁ A	C ₂ A	ASC	BHT
pH	1	5.62 ± 0.10 ^{b,E}	5.76 ± 0.30 ^{a,b,E}	5.94 ± 0.14 ^{a,E}	5.81 ± 0.02 ^{a,b,E}	5.82 ± 0.03 ^{a,b,E}	5.76 ± 0.02 ^{a,b,E}	5.79 ± 0.03 ^{a,b,E}
	3	6.53 ± 0.03 ^{a,D}	6.33 ± 0.01 ^{d,D}	6.36 ± 0.03 ^{c,d,D}	6.49 ± 0.04 ^{a,b,D}	6.44 ± 0.02 ^{b,c,D}	6.53 ± 0.02 ^{a,D}	6.40 ± 0.03 ^{c,d,D}
	6	7.14 ± 0.09 ^{a,C}	6.87 ± 0.07 ^{b,C}	6.94 ± 0.05 ^{b,C}	6.93 ± 0.03 ^{b,C}	6.80 ± 0.04 ^{b,C}	6.88 ± 0.08 ^{b,C}	6.76 ± 0.03 ^{b,C}
	9	7.82 ± 0.00 ^{a,B}	7.45 ± 0.05 ^{b,B}	7.29 ± 0.06 ^{b,c,B}	7.47 ± 0.03 ^{b,B}	7.31 ± 0.06 ^{b,c,B}	7.36 ± 0.14 ^{b,c,B}	7.15 ± 0.08 ^{c,B}
	11	8.22 ± 0.15 ^{a,A}	7.73 ± 0.08 ^{b,A}	7.61 ± 0.10 ^{b,c,A}	8.05 ± 0.07 ^{a,A}	7.53 ± 0.07 ^{b,c,A}	7.64 ± 0.13 ^{b,c,A}	7.35 ± 0.02 ^{c,A}
RTB	1	3.22 ± 0.50 ^{a,C}	3.16 ± 0.51 ^{a,C}	4.20 ± 0.50 ^{a,C}	2.93 ± 0.65 ^{a,C}	3.05 ± 0.58 ^{a,C}	3.14 ± 0.32 ^{a,C}	3.62 ± 0.54 ^{a,B}
	3	4.02 ± 0.36 ^{a,C}	2.70 ± 0.65 ^{a,C}	3.03 ± 0.70 ^{a,C}	3.20 ± 0.51 ^{a,C}	3.59 ± 0.40 ^{a,C}	3.37 ± 0.59 ^{a,C}	3.58 ± 0.51 ^{a,B}
	6	6.68 ± 0.41 ^{a,B}	5.43 ± 0.4 ^{a,b,B}	6.28 ± 0.24 ^{a,b,B}	5.10 ± 0.56 ^{b,B}	5.55 ± 0.50 ^{a,b,B}	6.00 ± 0.43 ^{a,b,B}	6.72 ± 0.41 ^{a,A}
	9	7.47 ± 0.29 ^{a,A,B}	7.61 ± 0.40 ^{a,A}	8.02 ± 0.18 ^{a,A}	7.61 ± 0.33 ^{a,A}	7.60 ± 0.26 ^{a,A}	7.70 ± 0.19 ^{a,A}	7.77 ± 0.18 ^{a,A}
	11	8.15 ± 0.23 ^{a,A}	8.00 ± 0.23 ^{a,A}	8.02 ± 0.24 ^{a,A}	7.98 ± 0.22 ^{a,A}	7.39 ± 0.41 ^{a,A}	7.97 ± 0.26 ^{a,A}	7.90 ± 0.19 ^{a,A}

a, b, c, d: Medias en la misma fila y en la misma sección con diferente literal son estadísticamente diferentes ($P < 0.05$; Prueba de Duncan).

A,B,C, D Medias en la misma columna y en la misma sección con diferente literal son estadísticamente diferentes ($P < 0.05$; Prueba de Duncan).

10 CONCLUSIONES

1. Los extractos etanólicos de ambas variedades mostraron el mayor contenido de polifenoles y flavonoides totales, así como una mayor actividad antioxidante en comparación con los extractos hidroetanólicos, siendo el extracto de la variedad Ataulfo el que presentó mayor actividad antioxidante.
2. El mayor efecto antimicrobiano de los extractos etanólicos e hidroetanólicos de ambas variedades se observó sobre cepas de *S. aureus* y *L. monocytogenes* cuando se evaluaron a 25 y 12.5 mg/mL.
3. Los extractos etanólicos de la variedad Ataulfo, mostraron un mejor efecto sobre la oxidación lipídica en carne cruda y cruda-cocida de bovino, almacenada en refrigeración, manteniendo el contenido de malonaldehído por debajo de 0.3 mg MAD/kg carne.
4. La estabilidad del color rojo en la carne cruda se logró empleando extractos etanólicos de la variedad Ataulfo, a las dos concentraciones empleadas.
5. Los extractos etanólicos de ambas variedades no mostraron efecto sobre la reducción del recuento total de bacterias aerobias en carne cruda para hamburguesas.
6. Por su efectividad para retardar la oxidación de lípidos y pigmentos, se podría considerar el uso de extractos provenientes de cáscara de mango como una alternativa al uso de antioxidantes sintéticos en carne para hamburguesas.

11 PERSPECTIVAS

1. Para identificar a los compuestos responsables de la actividad antioxidante se recomienda la caracterización química de los extractos etanólicos por medio de cromatografía líquida de alta resolución.
2. Así mismo, se recomienda realizar el aislamiento y cuantificación para identificar cada compuesto o mezcla de los compuestos responsables de la actividad antioxidante presentes en los extractos de cáscara de mango.
3. Se recomienda realizar una prueba sensorial, para identificar si los extractos etanólicos de cáscara de mango aportan un cambio en el color, sabor, olor y apariencia de la carne para hamburguesas crudas y cocidas.
4. Realizar la prueba microbiológica en bacterias psicrotrofas para observar si los extractos etanólicos tienen efecto inhibitorio.

12 REFERENCIAS

- Aaslyng, M. D., Kerry, J. F. & Ledward, D. (2002). Quality indicators for raw meat. En *Meat processing*, 157-174.
- Adilah, A. N., Jamilah, B., Noranizan, M. A., & Hanani, Z. N. (2018). Utilization of mango peel extracts on the biodegradable films for active packaging. *Food packaging and shelf life*, 16, 1-7.
- Agati, G., Azzarello, E., Pollastri, S., & Tattini, M. (2012). Flavonoids as antioxidants in plants: Location and functional significance. *Plant Science*, 196, 67–76.
- Ahn, J., Grün, I. U., & Fernando, L. N. (2002). Antioxidant properties of natural plant extracts containing polyphenolic compounds in cooked ground beef. *Journal of food science*, 67(4), 1364-1369.
- Ahn, J., Grün, I. U., & Mustapha, A. (2007). Effects of plant extracts on microbial growth, color change, and lipid oxidation in cooked beef. *Food Microbiology*, 24 (1), 7-14.
- Ajila, C. M., Aalami, M. Leelavathi, K. & Roa, P. (2010). Mango peel powder: A potential source of antioxidant and dietary fiber in macaroni preparations. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 11 (1), 219–224.
- Ajila, C. M., Naidu, K. A., Bhat, S. G., & Prasada-Rao, U. J. S. (2007). Bioactive compounds and antioxidant potential of mango peel extract. *Food Chemistry*, 105, 982–988.
- Alañón, M. E., Oliver-Simancas, R., Gómez-Caravaca, A. M., Arráez-Román, D., & Segura-Carretero, A. (2019). Evolution of bioactive compounds of three mango cultivars (*Mangifera indica* L.) at different maturation stages analyzed by HPLC-DAD-q-TOF-MS. *Food Research International*, 125, 108526.
- Allen, K. & Conforth, D. (2010). Comparison of spice-derived antioxidants and metal chelators on fresh beef color stability. *Meat Science*, 85 (4), 613–619.
- Almanza, M. D., Ruiz Hernández, K., Sosa Morales, M.E., Cerón García, A., & Martínez Soto, G. (2016). Caracterización fisicoquímica de seis variedades de mango. *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 1 (2), 267-272.
- Alnoumani, H., Ataman, Z. A., & Were, L. (2017). Lipid and protein antioxidant capacity of dried *Agaricus bisporus* in salted cooked ground beef. *Meat Science*, 129, 9-19.
- AMSA (2012). Guidelines for meat color evaluation. *American Meat Science Association*, Champaign, IL, USA.
- Andrés, A. I., Petró, M. J., Adámez, J. D., López, M., & Timón, M. L. (2017). Food by-products as potential antioxidant and antimicrobial additives in chill stored raw lamb patties. *Meat Science*, 129, 62-70.
- Andrés, A. I., Petron, M. J., Delgado-Adamez, J., Lopez, M., & Timon, M. (2017). Effect of tomato pomace extracts on the shelf-life of modified atmosphere-packaged lamb meat. *Journal of Food Processing and Preservation*, 41 (4), e13018.
- AOAC (1997). Official methods of analysis (15 th ed.). Washinhgton, DC: Association of Official Analytical Chemists.
- Araya-Quesada, Y., Morales-Torres, A., Vargas-Aguilar, P., & Wexler, L., (2014). Potencial tecnológico de harina de plátano verde con cáscara (*Musa AAB*) como sustituto de grasa para geles cárnicos. *Innotec. Revista del laboratorio tecnológico de Uruguay*, 9, 50-60.
- Armenteros, M., Ventanas, S., Morcuende, D., Estévez, M. & Ventanas, J. (2012). Empleo de antioxidantes naturales en productos cárnicos. *Eurocarne*, 207, 63-73.

- Arranz-Martínez. (2010). Compuestos polifenólicos (extraíbles y no extraíbles) en alimento de la dieta española: Metodología para su determinación e identificación. Universidad Complutense de Madrid
- Babuskin, S., Babu, P. A. S., Sasikala, M., Sabina, K., Archana, G., Sivarajan, M., & Sukumar, M. (2014). Antimicrobial and antioxidant effects of spice extracts on the shelf life extension of raw chicken meat. *International Journal of Food Microbiology*, 171, 32-40.
- Bañón S., Díaz, P., Rodríguez, M., Garrido, M. D. & Price, A. (2007). Ascorbate, green tea and grape seed extracts increase the shelf life of low sulphite beef patties. *Meat Science*, 77 (4), 626–633.
- Barberán, F. A. T. (2003). Los polifenoles de los alimentos y la salud. *ANS. Alimentación, nutrición y salud*, 10 (2), 41-53.
- Berardini, N., Fezer, R., Conrad, J., Beifuss, U., Carle, R., & Schieber, A. (2005a). Screening of mango (*Mangifera indica* L.) cultivars for their contents of flavonol O- and xanthone C-glycosides, anthocyanins, and pectin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 1563-1570.
- Berardini, N., Knödler, M., Schieber, A., & Carle, R. (2005b). Utilization of mango peels as a source of pectin and polyphenolics. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 6 (4), 442 – 452.
- Biswas, A. K., Chatli, M.K., & Sahoo, J. (2012). Antioxidant potential of curry (*Murraya koenigii* L.) and mint (*Mentha spicata*) leaf extracts and their effect on colour and oxidative stability of raw ground pork meat during refrigeration storage. *Food Chemistry*, 133, 467–472.
- Blasa, M., Gennari, L., Angelino, D. & Ninfali, P. (2010). Fruit and Vegetable Antioxidants in Health. *Bioactive Foods in Promoting Health*. California: Academic Press.
- Braña, D., Ramírez, E., Rubio, M., Sánchez, A., Torrecano, G., Arenas, M., Partida, J., Ponce, E., & Ríos, F. (2011). Manual de análisis de calidad en muestras de carne. *Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Fisiología y Mejoramiento Animal, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Folleto Técnico*, 11.
- Braña, D., Vélez, A., Espinosa, J. A., López, G. M., Pérez, M. M., Jolalpa, J. L., Martínez, G., & Esparza, A. L. (2012). Calidad en puntos de venta de carne. *Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Fisiología y mejoramiento animal*, 22.
- Brecht, J. K., Sargent, S. A., Kader, A. A., Mitcham, E. J., Maul, F., Brecht, P. E., & Menocal, O. (2010). Mango postharvest best management practices manual. *Gainesville: University of Florida Horticultural Sciences Department*, 78.
- Brewer, M. S. (2011). Natural Antioxidants: Sources, Compounds, Mechanisms of Action, and Potential Applications, *Comprehensive. Reviews in Food Science and Food Safety*, 10 (4), 221-247.
- Campo, M. M., Nute, G. R., Hughes, S. I., Enser, M., Wood, J. D., & Richardson, R. I. (2006). Flavor perception of oxidation in beef. *Meat Science*, 72, 303–311.
- Can-Cauich, C. A., Sauri-Duch, E., Betancur-Ancona, D., Chel-Guerrero, L., González-Aguilar, G. A., Cuevas-Glory, L. F., Pérez-Pacheco, E., & Moo-Huchin, V. M. (2017). Tropical fruit peel powders as functional ingredients: Evaluation of their bioactive compounds and antioxidant activity. *Journal of Functional Foods*, 37, 501–506.
- Chaijan, M. (2008). Review: Lipid and myoglobin oxidations in muscle foods. *Songklanakarin Journal Science and Technology*, 30 (1), 47-53.
- Cheema, C., Sommerhalter, M., (2015). Characterization of polyphenol oxidase activity in Ataúlfo mango. *Food Chemistry*, 171, 382–387.

- Cherdvorapong, V., & Tongkhao, K. (2017). Antibacterial activities of green mango peel extracts and its application in fish fillet. *Italian Journal of Food Science, Special Issue*, 46-50.
- CONASPROMANGO, (2012). Comité Nacional Sistema Producto Mango. "Plan Rector Nacional del Sistema Producto mango 2012" CONASPROMANGO, A.C. Colima. México.
- Ćujić, N., Šavikin, K., Janković, T., Pljevljakušić, D., Zdunić, G., & Ibrić, S. (2016). Optimization of polyphenols extraction from dried chokeberry using maceration as traditional technique. *Food chemistry*, 194, 135–142.
- Cushine, T. T. P., & Lamb, A. J. (2005). Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 26, 343-356.
- Cvejić, J. H., Krstonošić, M. A., Bursać, M., & Miljić, U. (2017). Polyphenols. En C. M. Galanakis (Ed.), *Nutraceutical and Functional Food Components: Effects of Innovative Processing Techniques* (pp 203-258). United Kingdom: Academic Press.
- da Silva, L. M. R., De Figueiredo, E. A. T., Ricardo, N. M. P. S., Vieira, I. G. P., De Figueiredo, R. W., Brasil, I. M., & Gomes, C. L. (2014). Quantification of bioactive compounds in pulps and by-products of tropical fruits from Brazil. *Food chemistry*, 143, 398-404
- de Jesús Ornelas-Paz, J., Yahia, E. M., & Gardea, A. A. (2008). Changes in external and internal color during postharvest ripening of 'Manila' and 'Ataulfo' mango fruit and relationship with carotenoid content determined by liquid chromatography–APCI+–time-of-flight mass spectrometry. *Postharvest Biology and Technology*, 50 (2-3), 145-152.
- DeJong, S., & Lanari, M. C. (2009). Extracts of olive polyphenols improve lipid stability in cooked beef and pork: Contribution of individual phenolics to the antioxidant activity of the extract. *Food chemistry*, 116 (4), 892-897.
- Del Blanco, A., Caro, I., Quinto, E. J., & Mateo, J. (2017). Quality changes in refrigerated stored minced pork wrapped with plastic cling film and the effect of glucose supplementation. *Meat Science*, 126, 55–62.
- Djantou, E. B., Mbofung, C. M. F., Scher, J., Phambu, N., & Morael, J. D. (2011). Alternation drying and grinding (ADG) technique: A novel approach for producing ripe mango powder. *LWT-Food Science and Technology*, 44 (7), 1585-1590.
- Dorta, E., González, M., Lobo, M. G., Sánchez-Moreno, C., & de Ancos, B. (2014). Screening of phenolic compounds in by-product extracts from mangoes (*Mangifera indica* L.) by HPLC-ESI-QTOF-MS and multivariate analysis for use as a food ingredient. *Food Research International*, 57, 51–60.
- Dorta, E., Lobo, M. G., & González, M. (2012) Using drying treatments to stabilise mango peel and seed: Effect on antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology*, 45 (2), 261 – 268.
- El Moussaoui, A., Zahra Jawhari, F., Almehti, A.M., Elmsellem, H., Fikri Benbrahim, K., Bousta, D., & Bari, A. (2019). Antibacterial, antifungal and antioxidant activity of total polyphenols of *Withania frutescens* L., *Bioorganic Chemistry*, 93, 103337.
- Ercolini, D., Russo, F., Nasi, A., Ferranti, P., & Villani, F. (2009). Mesophilic and psychrotrophic bacteria from meat and their spoilage potential *in vitro* and in beef. *Applied and Environmental Microbiology*, 75 (7), 1990-2001.
- Erickson, M. C. (2002). Lipid oxidation of muscle foods. En C.C. Akoh, & D.B. Min (Eds.). *Food lipids: Chemistry, nutrition, and biotechnology* (pp 365-411). New York, USA: Marcel Dekker.
- Escalona, V. B. (2012). Evaluación del efecto antimicrobiano de flavonoides obtenidos de extractos de hojas de *Tamarindus indica* Lin. *Multimed*, 16 (1), 1-14.

- Escobar, L., & Aristizábal, F. A. (2010). Aplicación de un método fluorométrico para evaluar la proliferación celular en líneas celulares tumorales. *Vitae*, 17 (2), 173-180.
- Evans, E. A., Ballen, F. H., & Siddiq, M. (2017). Mango production, global trade, consumption trends and postharvest processing and nutrition. En M.Siddiq, J.K.Brecht, & J.S. Sidhu. *Handbook of Mango Fruit: Production, Postharvest Science, Processing Technology and Nutrition* (1-16). Sussex, Jhon Wiley & Sons Ltd.
- Falowo, A. B., Fayemi, P. O., & Muchenje, V. (2014). Natural antioxidants against lipid–protein oxidative deterioration in meat and meat products: A review. *Food Research International*, 64, 171–181.
- Faustman, C., Sun, Q., Mancini, R., & Suman, S. P. (2010). Myoglobin and lipid oxidation interactions: Mechanistic bases and control. *Meat science*, 86 (1), 86-94.
- Feiner, G. (2006). Introduction to the microbiology of meat and meat products. *Meat products handbook: Practical science and technology*. Cambridge: Woodhead Publishing Limited, CRC Press.
- Fernández-Lopez, J., Zhi, N., Aleson-Carbonell, L., Pérez-Alvarez, J. A., & Kuri, V. (2005). Antioxidant and antibacterial activities of natural extracts: application in beef meatballs. *Meat science*, 69 (3), 371-380.
- Fernández-López, J.; Sayas-Barberá, E., Muñoz, T., Sendra, E., Navarro, C., & Pérez-Álvarez, J. A. (2008). Effect of packaging conditions on shelf-life of ostrich steaks. *Meat Science*, 78 (1-2), 143-152.
- Forero, F., & Pulido, A. P. (2016). Extracción, purificación y cuantificación de mangiferina en la corteza de algunos cultivares de mango (*Mangifera indica* L.). *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 10 (2), 292-300.
- Fornias, O. V., & Díaz, C. V. (1999). Clasificación de los productos cárnicos. *Revista Cubana de Alimentación y Nutrición*, 13 (1), 63-67.
- Gahruie, H. H, Hosseini, S.M. H., Taghavifard, M.H., Eskandari, M.H., Golmakani, M.T., & Shad, E. (2017). Lipid oxidation, color changes, and microbiological quality of frozen beef burgers incorporated with shirazi, thyme, cinnamon, and rosemary extracts. *Journal of Food Quality*, 2017, 1-9.
- García Luna, I. N. (2003). Caracterización fisicoquímica y funcional de los residuos fibrosos de mango criollo (*Mangifera indica* L.) y su incorporación en galletas. Tesis de licenciatura. Universidad Tecnológica de la Mixteca.
- Garrido, M. D., Auqui, M., Martí, N., & Linares, M. B. (2011). Effect of two different red grape pomace extracts obtained under different extraction systems on meat quality of pork burgers. *LWT-Food Science and Technology*, 44 (10), 2238-2243.
- Gill, A.O., & Gill, C.O. (2010). Packaging and the shelf life of fresh red and poultry meats. En G. L. Robertson (Ed.), *Food packaging and shelf life, A practical Guide* (pp. 259-277). Florida: Taylor and Francis Group, LLC.
- Gnanavinthan, A. (2013). Introduction to the major classes of bioactives present in fruit. En M.Skinner, & D. Hunter (Eds.). *Bioactives in Fruit: Health Benefits and Functional Foods* (pp 1-18). Sussex, John Wiley & Sons, Ltd
- Gómez-Caravaca, A. M., López-Cobo, A., Verardo, V., Segura-Carretero, A., & Fernández-Gutiérrez, A. (2016). HPLC-DAD-q-TOF-MS as a powerful platform for the determination of phenolic and other polar compounds in the edible part of mango and its by-products (peel, seed, and seed husk). *Electrophoresis*, 37 (7-8), 1072-1084.

- Gu, C., Yang, M., Zhou, Z., Khan, A., Cao, J., & Cheng, G. (2019). Purification and characterization of four benzophenone derivatives from *Mangifera indica* L. leaves and their antioxidant, immunosuppressive and α -glucosidase inhibitory activities. *Journal of Functional Foods*, 52, 709–714.
- Guandalini, B. B. V., Rodrigues, N. P., & Marczak, L. D. F. (2019). Sequential extraction of phenolics and pectin from mango peel assisted by ultrasound. *Food Research International*, 119, 455-461.
- Guija-Poma, E., Inocente-Camones, M. A., Ponce-Pardo, J. & Zarzosa-Norabuena, E. (2015). Evaluación de la técnica 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo (DPPH) para determinar capacidad antioxidante. *Horizonte médico*, 15 (1). 57 – 60.
- Gullón, P., Gullón, B., Romani, A., Rocchetti, G., & Lorenzo, J. M. (2020). Smart advanced solvents for bioactive compounds recovery from agri-food by-products: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 101, 182-197.
- Haak, L., Raes, K., & De Smet, S. (2009). Effect of plant phenols, tocopherol and ascorbic acid on oxidative stability of pork patties. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89, 1360–1365.
- Hamed, Y. S., Abdin, M., Akhtar, H.M.S., Chen, D., Wan, P., Chen, G., & Zeng, X., (2019). Extraction, purification by macrospores resin and in vitro antioxidant activity of flavonoids from *Moringa oliefera* leaves. *South African Journal of Botany*, 124, 270-279.
- Hayrapetyan, H., Hazeleger, W. C., & Beumer, R. R., (2012). Inhibition of *Listeria monocytogenes* by pomegranate (*Punica granatum*) peel extract in meat paté at different temperatures. *Food Control*, 23 (1), 66–72.
- Heim, K. E., Tagliaferro, A. R. & Bobilya, D. J. (2002). Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationship. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 13 (10), 572 – 584.
- Hollenbeck, J. J., Apple, J. K., Yancey, J. W., Johnson, T. M., Kerns, K. N., & Young, A. N. (2019). Cooked color of precooked ground beef patties manufactured with mature bull trimmings. *Meat science*, 148, 41-49.
- Hoyos-Arbeláez, J., García, G. R., Arévalo, F. J., Vázquez, M., Fernández, H., & Granados, S. G. (2018). Electrochemical determination of mangiferin using glassy carbon electrodes modified with carbonaceous nanomaterials. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 808, 1-7.
- Hu, K. Dars, A. G., Liu, Q., Xie, B., & Sun, Z. (2018). Phytochemical profiling of the ripening of Chinese mango (*Mangifera indica* L.) cultivars by real-time monitoring using UPLC-ESI-QTOF-MS and its potential benefits as prebiotic ingredients. *Food Chemistry*, 256, 171–180.
- Hygreeva, D., Pandey, M.C., & Radhakrishna, K. (2014). Potential applications of plant-based derivatives as fat replacers, antioxidants and antimicrobials in fresh and processed meat products. *Meat Science*, 98, 47–57.
- ICMSF (International Commission for Microbial Specifications in Food) (2004). Microorganismos indicadores. In *Microorganismos de los alimentos 1. Técnicas de análisis microbiológico*. Zaragoza, Spain: Acribia.
- Ignat, I., Volf, I., & Popa, V. I. (2011). A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. *Food Chemistry*, 126 (4), 1821–1835.
- Imran, M., Arshad, M. S., Butt, M. S., Kwon, J. H., Arshad, M. U., & Sultan, M. T. (2017). Mangiferin: a natural miracle bioactive compound against lifestyle related disorders. *Lipids in Health and Disease*, 16 (1), 84.

- Imran, M., Salehi, B., Sharifi-Rad, J., Aslam Gondal, T., Saeed, F., Imran, A., Shahbaz, M., Tsouh Fokou, P. V., Arshad, M. U., Khan, H., Martins, N., Estevinho, L. M. & Guerreiro, S. G. (2019). Kaempferol: A key emphasis to its anticancer potential. *Molecules*, 24 (12), 2277.
- Jahurul, M. H. A., Zaidul, I. S. M., Ghafoor, K., Al-Juhaimi, F. Y., Nyam, K. L., Norulaini, N. A. N., Sahena, F., & Mohd. A. K. O., (2015). Mango (*Mangifera indica* L.) by-products and their valuable components: A review. *Food Chemistry*, 183, 173–180.
- James, S. J., & James, B. (2002). Microbiological of refrigerated meat. Meat refrigeration. 3-16.
- Jeanet, R., Croguennec, T., Schuck, P., Brulé, G., & Beltrán Gracia, J. A. (2010). *Ciencia de los alimentos. Bioquímica-microbiología-procesos-productos*. (No. TP370 C54).
- Jia, N., Kong, B., Liu, Q., Diao, X., & Xia, X. (2012). Antioxidant activity of black currant (*Ribes nigrum* L.) extract and its inhibitory effect on lipid and protein oxidation of pork patties during chilled storage. *Meat Science*, 91 (4), 533-539.
- Jiang, J., & Xiong, Y. L. (2016). Natural antioxidants as food and feed additives to promote health and quality of meat products: A review. *Meat Science*, 120, 107–117.
- Jutiviboonsuk, A., & Sardsaengjun, C. (2010). Mangiferin in leaves of three thai mango (*Mangifera indica* L.) varieties. *Isan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 6 (3), 122-129.
- Kabir, Y., Shekhar, H. U., & Sidhu, J. S. (2017). Phytochemical compounds in functional properties of mangoes. *Handbook of mango fruit: Production, Postharvest Science, Processing Technology and Nutrition*, 237-254. Woodhead Publishing.
- Kader, A. (2008). Parámetros de calidad y estándares de clasificación en mango: Revisión de información disponible y futuras necesidades de investigación. *Universidad de California*, 1-28.
- Kähkönen, M. P., Hopia, A.I., Vourela, H. J., Rauha, J. P., Pihlaja, K., Kujala, T. S. & Heinonen, M. (1999). Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of agricultural and food chemistr*, 47 (10), 3954-3962.
- Kanner, J. (1994). Oxidative process in meat and meat products: quality implications. *Meat Science*, 36 (1-2), 169-189.
- Karre, L., Lopez, K., & Getty, J. K. (2013). Natural antioxidants in meat and poultry products. *Meat Science*, 94 (2), 220–227.
- Kim, H. W., Choi, Y. S., Choi, J. H., Kim, H.Y., Hwag, K. E., Song, D. H., Lee, S. Y., Lee, M. A., & Kim, C. J., (2013). Antioxidant effects of soy sauce on color stability and lipid oxidation of raw beef patties during cold storage. *Meat Science*, 95 (3), 641-646.
- Kim, H., Moon, J. Y., Kim, H., Dong-Sun, L., Cho, M., Hyung-Kyoon, C., Kim, Y. S., Mosaddik, A., Cho. S. K. (2010). Antioxidant and antiproliferative activities of mango (*Mangifera indica* L.) flesh and peel. *Food Chemistry*, 121 (2), 429–436.
- Kubow, S. (1992). Routes of formation and toxic consequences of lipid oxidation products in foods. *Free Radical Biology and Medicine*, 12 (1), 63-81.
- Kulkarni, V. M., & Rathod, V. K. (2014). Mapping of an ultrasonic bath for ultrasound assisted extraction of mangiferin from *Mangifera indica* leaves. *Ultrasonics sonochemistry*, 21 (2), 606-611.
- Laguerre, J. M., Lecomte, J., & Villeneuve, P. (2007). Evaluation of the ability of antioxidants to counteract lipid oxidation: Existing methods, new trends and challenges. *Progress in Lipid Research*, 46 (5), 244-282.

- Lagunes, L., Tovar, B., Mata, M., Vinay-Vadillo, J. C., De La Cruz, J. & Garcia, H. S. (2007). Effect of exogenous ethylene on ACC content and ACC oxidase activity during ripening of manila mangoes subjected to hot water treatment. *Plant Foods Hum Nutr*, 62:157–163.
- Lawrie, R. A. & Ledward, D. (2014). The eating quality meat. *Lawrie's meat science*. England: Woodhead Publishing Limited.
- Lawson T., Lycett, G. W, Alia A., & Chin, C. F., (2019). Characterization of Southeast Asia mangoes (*Mangifera indica* L) according to their physicochemical attributes. *Scientia Horticulturae*, 243, 189–196.
- Lee, M. A., Choi, J. H., Choi, Y. S., Han, D. J., Kim, H. Y., Shim, S. Y., Chung, H. K. & Kim, C. J. (2010). The antioxidative properties of mustard leaf (*Brassica juncea*) kimchi extracts on refrigerated raw ground pork meat against lipid oxidation. *Meat Science*, 84, 498–504.
- Legiscomex, (2014). Mangos en México: variedades de mango. Informe sectorial de mangos en México. 1-5.
- Lescano, C. H., de Lima, F. F., Caires, A. R. L., & de Oliveira, I. P. (2019). Polyphenols Present in Campomanesia Genus: Pharmacological and Nutraceutical Approach. In *Polyphenols in Plants*, 407-420.
- Link, J. V., Tribuzi, G., de Moraes, J. O., & Laurindo, J. B. (2018). Assessment of texture and storage conditions of mangoes slices dried by a conductive multi-flash process. *Journal of Food Engineering*, 239, 8–14.
- Liu, F. X., Fu, S. F., Bi, X. F., Chen, F., Liao, X. J., Hu, X. S., & Wu, J. H. (2013). Physico-chemical and antioxidant properties of four mango (*Mangifera indica* L.) cultivars in China. *Food Chemistry*, 138, 396–405.
- Lizárraga., V. C. & Hernández, G. C. (2018). Polifenoles de la cáscara de mango para la acuicultura. *Ciencia*, LXIX. 1, 1 – 6.
- Lizárraga-Velázquez, C. E., Hernández, C., González-Aguilar, G. A., & Heredia, J. B. (2018). Effect of hydrophilic and lipophilic antioxidants from mango peel (*Mangifera indica* L. cv. Ataúlfo) on lipid peroxidation in fish oil. *CyTA- Journal of Food*, 16 (1), 1095–1101.
- Lobo, M., G., & Sidhu, J., S. (2017). Biology, Postharvest Physiology, and Biochemistry of Mango. En M.Siddiq, J.K.Brecht, & J.S. Sidhu. *Handbook of Mango Fruit: Production, Postharvest Science, Processing Technology and Nutrition* (pp. 37-59). Sussex, Jhon Wiley & Sons Ltd.
- Loizzo, M. R., Sicari, V., Pellicanò, T., Xiao, J., Poiana, M., & Tundis, R. (2019). Comparative analysis of chemical composition, antioxidant and anti-proliferative activities of Italian *Vitis vinifera* by-products for a sustainable agro-industry. *Food and Chemical Toxicology*, 127, 127-134.
- López, H. L. H., Braña, V. D., & Hernández, H. I. (2013). Estimación de la vida de anaquel de la carne. *Centro Nacional de Investigación Disciplinaria y Mejoramiento Animal. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias*. Folleto técnico No. 11.
- Lorenzo, J. M., Sineiro, J., Amado, I. R., & Franco, D. (2014). Influence of natural extracts on the shelf life of modified atmosphere-packaged pork patties. *Meat Science*, 96 (1), 526-534.
- Lozoya, D., Castillo, S., Hernández, D., Rivas, C., & Sánchez, E. (2018). Evaluación de la actividad antimicrobiana, antiinflamatoria y antioxidante de subproductos de *Opuntia Ficus-Indica* y *Mangifera indica*. *Investigación y desarrollo en ciencia y tecnología de alimentos México. [Revista on-line]*, 3, 139-144.

- Ma, X., Wu, H., Liu, L., Yao, Q., Wang, S., Zhan, R., Xing, S. & Zhou, Y. (2011). Polyphenolic compounds and antioxidant properties in mango fruits. *Scientia Horticulturae*, 129 (1), 102-107.
- Manach, C., & Donovan, J. L. (2004). Pharmacokinetics and metabolism of dietary flavonoids in humans. *Free radical research*, 38 (8), 771-785.
- Mancini, R. A., & Hunt, M. C. (2005). Current research on the color of meat. *Meat Science*, 71 (1), 100–121.
- Martínez-Flórez, S., González-Gallego, J., Culebras, J. M., & Tuñón, M. (2002). Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nutrición hospitalaria*, 17 (6), 271-278.
- Masibo, M. & He, Q. (2008). Major Mango Polyphenols and their Potential Significance to Human Health. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 7 (4), 309-319.
- Mercado, G., López Teros, V., Montalvo González, E., González Aguilar, G. A., Álvarez Parrilla, E., & Sáyago Ayerdi, S. G. (2018). Efecto de la extracción asistida por ultrasonido en la liberación y bioaccesibilidad in vitro de carotenoides, en bebidas elaboradas con mango (*Mangifera indica* L.) 'Ataulfo'. *Nova scientia*, 10 (20), 100-132.
- Mira, L., Tereza Fernandez, M., Santos, M., Rocha, R., Helena Florêncio, M., & Jennings, K. R. (2002). Interactions of flavonoids with iron and copper ions: a mechanism for their antioxidant activity. *Free radical research*, 36 (11), 1199-1208.
- Mojzer, E., Knez Hrnčič, M., Škerget, M., Knez, Ž., & Bren, U. (2016). Polyphenols: Extraction methods, antioxidative action, bioavailability and anticarcinogenic effects. *Molecules*, 21 (7), 1-38.
- Monreal, A. J., Manzanera M. S., & Tomé, M. M. (2012). Optimización del método captación del radical 2, 2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) para evaluar actividad antioxidante en bebida de café. En *Anuales de Veterinaria de Murcia*, 28, 67-78.
- Morrissey, P.A., & Kerry, J.P. (2004). Lipid oxidation and the shelf-life of muscle foods. En R. Steele (Ed.). *Understanding and measuring the shelf-life of food*. (pp. 357-395). England: Woodhead Publishing Limited.
- Murphy, K., J., Walker K., M., Dyer, K., A., & Bryan J, (2019). Estimation of daily intake of flavonoids and major food sources in middle-aged Australian men and women. *Nutrition Research*, 61, 64-81.
- Mushore, J., & Matuvhunya, M. (2013). Antibacterial properties of *Mangifera indica* on *Staphylococcus aureus*. *African journal of clinical and experimental microbiology*, 14 (2), 62-74.
- Nikmaram, N., Budaraju, S., Barba, F. J., Lorenzo, J. M., Cox, R. B., Mallikarjunan, K., & Roohinejad, S. (2018). Application of plant extracts to improve the shelf-life, nutritional and health-related properties of ready-to-eat meat products. *Meat science*, 145, 245-255.
- Norma Mexicana. (1978). Determinación de la acidez titulable en productos elaborados a partir de frutas y hortalizas. NMX-F-102-S-1978. México. Dirección general de normas.
- Ornelas-Paz, J. D. J., & Yahia, E. M. (2014). Effect of the moisture content of forced hot air on the postharvest quality and bioactive compounds of mango fruit (*Mangifera indica* L. cv. Manila). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94 (6), 1078-1083.
- Ornelas-Paz, J., Yahia, E. M., & Gardea, A. A. (2008). Changes in external and internal color during postharvest ripening of 'Manila' and 'Ataulfo' mango fruit and relationship with carotenoid content determined by liquid chromatography–APCI–time-of-flight mass spectrometry. *Postharvest Biology and Technology*, 50 (2-3), 145-152.

- Oroian, M. & Escriche, I. (2015). Antioxidants: Characterization, natural sources, extraction and análisis. *Food Research International*, 74, 10–36.
- Palafox-Carlos, H., Yahia, E. M., & González-Aguilar, G.A. (2012). Identification and quantification of major phenolic compounds from mango (*Mangifera indica*, cv. Ataulfo) fruit by HPLC–DAD–MS/MS-ESI and their individual contribution to the antioxidant activity during ripening. *Food Chemistry*, 135, 105–111.
- Pateiro, M., Vargas, F. C., Chinchá, A. A., Sant'Ana, A. S., Strozzi, I., Rocchetti, G., Barba, F. J., Dominguez, R., Lucini, L., Sobral, P. J. & Lorenzo, J. M. (2018). Guarana seed extracts as a useful strategy to extend the shelf life of pork patties: UHPLC-ESI/QTOF phenolic profile and impact on microbial inactivation, lipid and protein oxidation and antioxidant capacity. *Food Research International*, 114, 55-63.
- Patiño-Rodríguez, O., Bello-Pérez, L. A., Agama-Acevedo, E., & Pacheco-Vargas, G. (2020). Pulp and peel of unripe stenospermocarpic mango (*Mangifera indica* L. cv Ataulfo) as an alternative source of starch, polyphenols and dietary fibre. *Food Research International*, 138, 109719.
- Peñarrieta, J. M., Tejada, L., Mollinedo, P., Vila, J. L., & Bravo, J. A. (2014). Phenolic compounds in food. *Revista Boliviana de Química*, 31 (2), 68-81.
- Ponce, E., Braña, D., Rubio, M., & Delgado, E. (2013). Carne fresca. Consideraciones para su compra y manejo. Folleto Técnico No. 29. Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa.
- Prior, R. L., Cao, G., Martin, A., Sofic, E., McEwen, J., O'Brien, C., Lischner, N., Ehlenfeldt, M., Kalt, W., Krewer, G., & Mainland, C. M. (1998). Antioxidant capacity as influenced by total phenolic and anthocyanin content, maturity, and variety of *Vaccinium* species. *Journal of agricultural and food chemistry*, 46 (7), 2686-2693.
- Quiñones, M., Miguel, M., & Aleixandre, A. (2012). Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Nutrición hospitalaria*, 27 (1), 76-89.
- Radha krishnan, K., Babuskin, S., Babu, P. A. S., Fayidh, M. A., Sabina, K., Archana, G., ... & Sukumar, M. (2014). Bio protection and preservation of raw beef meat using pungent aromatic plant substances. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94 (12), 2456-2463.
- Ramírez-Maganda, J., Blancas-Benítez, F. J., Zamora-Gasga, V. M., García-Magaña, M. D. L., Bello-Pérez, L. A., Tovar, J. & Sáyago-Ayerdi, S. G. (2015). Nutritional properties and phenolic content of a bakery product substituted with a mango (*Mangifera indica*) 'Ataulfo' processing by-product. *Food Research International*, 73, 117–123.
- Reische, D.W., Lillard, D.A., & Eitenmiller, R. R. (2002). Antioxidants. En C.C. Akoh, & D.B Min (Eds). *Foods Lipids*, (pp 489-516). New York: Marcel Dekker.
- Ribeiro, J. S., Santos, M. J. M. C., Silva, L. K. R., Pereira, L. C. L., Santos, I. A., da Silva Lannes, S. C., & da Silva, M. V. (2019). Natural antioxidants used in meat products: A brief review. *Meat Science* 148, 181–188.
- Rocha. R. S.M., & Schieber, A. (2010). Bioactive compounds in mango (*Mangifera indica* L.). En R. R. Watson, & V.R. Preedy (Eds). *Bioactive foods in promoting health: Fruits and vegetables* (pp. 507-523). London, Academic Press.
- Rice-Evans, C. A. & Miller, N. J. (1996). Antioxidant activities of flavonoids as bioactive compounds of food. *Biochemical Society Transactions*, 24 (3), 790-795.

- Rico, X., Gullón, B., Alonso, J. L., & Yáñez, R. (2020). Recovery of high value-added compounds from pineapple, melon, watermelon and pumpkin processing by-products: An overview. *Food Research International*, 132, 109086.
- Rivas-Robles, E., Posada-Toledo, A., Vela-Gutiérrez, G., & Vargas-Ortiz, M. A. (2020). Evaluación fisicoquímica y determinación sensorial de frutos descartados de *Mangifera indica* L. variedad Ataulfo en Acapetahua, Chiapas, México. *Comité editorial de la Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 21 (1), 51.
- Robles-Sánchez, R. M., Villegas-Ochoa, M. A., Cruz-Valenzuela, M. R., Vázquez-Ortiz, F. A., Castelo, A. A., Zavala-Ayala, F., & González-Aguilar, G. A. (2006). Determinación del estado de madurez óptimo de mango "Ataulfo" destinado a procesamiento mínimo. In *VIII Simposio Nacional y V Ibérico sobre Maduración y Post-recolección*. 27-30.
- Rodríguez-Carpena, J. G., Morcuende, D., & Estévez, M. (2011). Avocado by-products as inhibitors of color deterioration and lipid and protein oxidation in raw porcine patties subjected to chilled storage. *Meat Science*, 89, 166–173.
- Rodwell, V. W., & Kennelly, P.J. (2003). Proteins: higher orders of structure. *Harper's illustrated biochemistry*, 30-39.
- Salueña, B. H., Gamasa, C. S., Rubial, J. M. D., & Odriozola, C. A. (2019). CIELAB color paths during meat shelf life. *Meat science*, 157, 107889.
- Salvi, D., Arserim, E., & Karwe, M. (2017). Innovative processing technologies for mango products. En M.Siddiq, J.K.Brecht, & J.S. Sidhu. *Handbook of Mango Fruit: Production, Postharvest Science, Processing Technology and Nutrition* (pp. 169-193). Sussex, Jhon Wiley & Sons Ltd.
- Sánchez-Escalante, A., Djenane, D., Torrescano, G., Giménez, B., Beltrán, J. A., & Roncalés, P. (2003). Evaluation of the antioxidant ability of hydrazine-purified and untreated commercial carnosine in beef patties. *Meat Science*, 64 (1), 59-67.
- Sánchez-Escalante, A., Torrescano, G., Djenane, D., Beltrán, J. A., Giménez, B., & Roncalés, P. (2011). Effect of antioxidants and lighting conditions on color and lipid stability of beef patties packaged in high-oxygen modified atmosphere. *CyTA-Journal of Food*, 9 (1), 49-57.
- Santos, M., T., Armendáriz, B., P., Arroyo, J., C. & Moreno, Y., M., (2013). Obtención de aceite de semilla de mango manila (*Mangifera indica* L.) como una alternativa para aprovechar subproductos agroindustriales en regiones tropicales. *Revista Mexicana de Agronegocios*, 32, 258- 266.
- Schweigert, B. S. (1994). Contenido en nutrientes y valor nutritivo de la carne y los productos cárnicos. En J.F. Price, & B.S. Schweigert. *Ciencia de la carne y de los productos cárnicos* (pp. 249-278). España: *Acribia*.
- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA), (2017). Planeación Agrícola Nacional 2017-2030.
- Secretaría de Salud, (1993). Norma Oficial Mexicana para bienes y servicios. Productos de la carne. Carne molida y carne molida moldeada. Envasadas. Especificaciones sanitarias NOM-034-SSA1-1993. México: Secretaría de Salud.
- Secretaría de Salud, (1994). Norma Oficial Mexicana para bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa NOM-092-SSA1-1994. México: Secretaría de Salud.
- Secretaría de Salud, (1994a). Norma Oficial Mexicana para bienes y servicios. Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico. NOM-110-SSA1-1994: México: Secretaría de Salud.

- Secretaría de Salud, (1995). Norma Oficial Mexicana. Productos cárnicos troceados y curados. Productos cárnicos curados y madurados. Disposiciones y especificaciones sanitarias. NOM-145-SSA1-1995: México: Secretaría de Salud.
- Secretaría de Salud, (2002). Norma Oficial Mexicana para productos y servicios. Productos cárnicos procesados. Especificaciones sanitarias. Métodos de prueba. Nom-213-SSA1-2002. México: Secretaría de Salud.
- Secretaría de Salud, (2004). Norma Oficial Mexicana para productos y servicios. Especificaciones sanitarias en los establecimientos dedicados al sacrificio y faenado de animales para abasto, almacenamiento, transporte y expendio. Especificaciones sanitarias de productos. NOM-194-SSA1-2004: México: Secretaría de Salud.
- Serna-Cock, L., Torres-León, C. & Ayala-Aponte, A. (2015). Evaluación de polvos alimentarios obtenidos de cáscaras de mango (*Mangifera indica* L.) como fuente de Ingredientes Funcionales. *Información Tecnológica*, 26 (2), 41-50.
- Shah K. A., Patel M. B., Patel R. J., & Parmar P. K. (2010). *Mangifera Indica* (Mango). *Pharmacognosy reviews*, 4 (7), 42-48.
- Shah, M. A., Don Bosco, S. J., & Mir, S. A. (2014). Plant extracts as natural antioxidants in meat and meat products. *Meat Science*, 98, 21–33.
- Shahidi, F. (2016). Oxidative Stability and Shelf Life of Meat and Meat Products. En M.Hu & C. Jacobsen (Eds). *Oxidative stability and shelf life of foods containing oils and fats* (pp. 373-389). London, AOCS Press.
- Siller-Cepeda, J., Muy-Rangel, D., Báez-Sañudo, M., Araiza-Lizarde, E. & Ireta-Ojeda, A. (2009). Calidad poscosecha de cultivares de mango de maduración temprana, intermedia y tardía. *Fitotecnica mexicana*, 32 (1), 45-52.
- Siller-Sánchez, A., Alvarez-Pérez, O. B., Aguilar, C. N., & Rojas, R. (2013). Polifenoles de Cáscara de Mango (*Mangifera caesia* var. Ataulfo): Una Alternativa Antioxidante y Antimicrobiana. *Acta Química Mexicana*, 5 (10), 1-11.
- Sogi, D. S., Siddiq, M., Greiby, I., & Dolan K. D. (2013). Total phenolics, antioxidant activity, and functional properties of ‘Tommy Atkins’ mango peel and kernel as affected by drying methods. *Food Chemistry*, 141 (3), 2649–2655.
- Sultana, B., Hussain, Z., Asif, M., & Munir, A. (2012). Investigation on the Antioxidant Activity of Leaves, Peels, Stems Bark, and Kernel of Mango (*Mangifera indica* L.). *Journal of Food Science*, 77 (8), C849-C852.
- Suman, S. P., & Joseph, P. (2014). Chemical and physical characteristics of meat| color and pigment. *Encyclopedia of Meat Sciences*, 1, 249–256.
- Sumaya-Martínez, M.T., Herrera, L. M. S., García, G. T., & Paredes, D. G., (2012). Red de valor del mango y sus desechos con base en las propiedades nutricionales y funcionales. *Revista Mexicana de Agronegocios*, 30, 826-833.
- Szabo, K., Dulf, F. V., Diaconeasa, Z., & Vodnar, D. C. (2019). Antimicrobial and antioxidant properties of tomato processing byproducts and their correlation with the biochemical composition. *LWT*, 116, 108558, 1-8.
- Talcott, S., & Talcott, S. (2009). Caracterización por Espectroscopía de Masas y Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) del Mango (*Mangifera Indica* L.) después de una Hidrólisis Enzimática.

Texas A&M University, Department of Nutrition and Food Science. *Texas A&M University, Department of Nutrition and Food Science.*

- Tapp, W. N., Yancey, J. W., Apple, J. K., Dikeman, M. E., & Godbee, R. G. (2012). Noni puree (*Morinda citrifolia*) mixed in beef patties enhanced color stability. *Meat science*, 91 (2), 131-136.
- Tirzitis G. & Bartosz G. (2010). Determination of antiradical and antioxidant activity: basic principles and new insights. *Acta Biochimica Polonica*, 57 (1), 139–142.
- Tomaz, I., Huzanić, N., Preiner, D., Stupić, D., Andabaka, Ž., Maletić, E., Kontić, J. K., & Ašperger, D. (2019). Extraction methods of polyphenol from grapes: extractions of grape polyphenols. En R. R. Watson (Ed.). *Polyphenols in Plants* (pp. 151-167). London: Academic Press.
- Torres-León, C., Vicente, A. A., Flores-López, M. L., Rojas, R., Serna-Cock, L., Alvarez-Pérez, O. B., & Aguilar, C. N. (2018). Edible films and coatings based on mango (var. Ataulfo) by-products to improve gas transfer rate of peach. *LWT*, 97, 624-631.
- Turgut, S. S., Soyer, A., & Işıklı, F. (2016). Effect of pomegranate peel extract on lipid and protein oxidation in beef meatballs during refrigerated storage. *Meat Science*, 116, 126-132.
- Utrera, M., Morcuende, D., Ganhão, R., & Estévez, M. (2014). Role of phenolics extracting from *Rosa canina* L. on meat protein oxidation during frozen storage and beef patties processing. *Food and Bioprocess Technology*, 8, 854–864.
- Vázquez-Celestino, D., Ramos-Sotelo, H., Rivera-Pastrana, D. M., Ma. Vázquez-Barríos, M. E., & Mercado-Silva, E. M. (2016). Effects of waxing, microperforated polyethylene bag, 1-methylcyclopropene and nitric oxide on firmness and shrivel and weight loss of 'Manila' mango fruit during ripening. *Postharvest Biology and Technology*, 111, 398–405.
- Venegas Casanova, E. A. (2012). Cuantificación de flavonoides totales y taninos presentes en el extracto acuoso de hojas de *The asinensis* L. y su capacidad antioxidante. UCV – *Scientia*, 4 (2), 161-174.
- Venegas, O., & Pérez, D. (2009). Determinación de rancidez en carne. *Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 19 (1), 60-70.
- Vicente-Vicente, L., Prieto, M., & Morales, A. I. (2013). Eficacia y seguridad de la quercetina como complemento alimenticio. *Revista de Toxicología*, 30 (2), 171-181.
- Villalobos-Delgado, L. H., González-Mondragón, E. G., Ramírez-Andrade, J., Salazar-Govea, A. Y., & Santiago-Castro, J. T. (2020). Oxidative stability in raw, cooked, and frozen ground beef using Epazote (*Chenopodium ambrosioides* L.). *Meat Science*, 108187, 1-9.
- Villalobos-Delgado, L. H., González-Mondragón, E.G., Salazar, G.A.Y., Ramírez, A.J., & Santiago-Castro, J.T., (2017). Potential application of epazote (*Chenopodium ambrosioides* L.) as natural antioxidant in raw ground pork. *LWT- Food Science and Technology*, 84, 306-313.
- Villalobos-Delgado, L. H., Mateo, J., Caro, I., Ramos, M. Y. L., Mendez, N. G., Cansino, R. G., & Mondragón, E. G. G. (2019). Natural antioxidants in fresh and processed meat. En C.M. Galanakis (Ed.). *Sustainable Meat Production and Processing* (pp. 207-236).United Kingdom: Academic Press.
- Villalobos-Delgado, L.H., Nevárez-Moorillon, G.V., Caro, I., Quinto, E.J., & Mateo, J. (2019). Natural antimicrobial agents to improve foods shelf-life. In C. M. Galanakis (Ed.), *Food Quality and Shelf Life* (pp. 125-157). United Kingdom: Academic Press.

- Voet, D., Voet, J. G., & Pratt, C. W. (2007). Función de las proteínas: mioglobina y hemoglobina. *En Fundamentos De Bioquímica/Fundamental of Biochemistry*, 363-369.
- Warner, R. (2014). Measurement of meat quality. *Measurements of Water-holding Capacity and Color: Objective and Subjective*, 2, 164-171.
- Yahia, E. M., Ornelas-Paz, J. D. J., & Gardea, A. (2006). Extraction, separation and partial identification of ataulfo mango fruit carotenoids. In *IV International Conference on Managing Quality in Chains-The Integrated View on Fruits and Vegetables Quality*, 712, 333-338.
- Yang, B., Liu, H., Yang, J., Gupta, V. K., & Jiang, Y. (2018). New insights on bioactivities and biosynthesis of flavonoid glycoside. *Trends in Food Science & Technology*, 79, 116 – 124.
- Zhang, W., Xiao, S., & Ahn, D. U. (2013). Protein Oxidation: Basic principles and implications for meat quality. *Critical reviews in Food Science and Nutrition*, 53 (11), 1191-1201.