



Universidad Autónoma De Querétaro

Facultad de Química

Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos

**“Determinación de la biotransformación de los
compuestos polifenólicos de un producto de confitería
funcional adicionado con bagazo de mango”**

TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el Grado de
Maestra en Ciencia y Tecnología de Alimentos

Presenta:

I.Q. en Al. LUZ ABRIL HERRERA CAZARES

Dirigida por:

DRA. MARCELA GAYTAN MARTÍNEZ

Dra. Marcela Gaytán Martínez

Presidente

Dr. Abraham Wall Medrano

Secretario

Dra. Rocio Campos Vega

Vocal

Dra. Ma. Guadalupe Flavia Loarca Piña

Suplente

Dra. Aurea Karina Ramírez Jiménez

Suplente

Centro Universitario, Querétaro, Qro.

Diciembre, 2019

México

RESUMEN

En la elaboración de algunos alimentos se generan subproductos ricos en compuestos nutraceuticos por lo que se busca su aprovechamiento en la elaboración de alimentos funcionales. Sin embargo, no es suficiente con que contengan estos compuestos bioactivos sino que lleguen a los órganos destino para ejercer su función. En particular, resulta indispensable conocer los cambios que sufren al durante su paso en el tracto gastrointestinal así como conocer los mecanismos por los cuales estos pueden ser absorbidos. Lo mencionado anteriormente puede ser regulado proporcionando una matriz alimentaria y por el procesamiento al que son sometidos. En estudios anteriores se desarrolló un confite adicionado de bagazo de mango el cual presento una alta bioaccesibilidad de compuestos fenólicos y flavonoides. Además se observó que la fracción no digerible contribuya con la formación de ácidos grasos de cadena corta. Sin embargo, no se explicó si dicho comportamiento se debía a la matriz alimentaria o bien al procesamiento de extrusión al que se sometía. Es por ello que el objetivo del presente trabajo fue determinar los cambios en la biotransformación de los compuestos polifenólicos de un confite funcional adicionado con bagazo de mango sometido a extrusión. Para ello se sometió a una digestión gastrointestinal *in vitro* el bagazo de mango (BM), un confite adicionado con bagazo de mango (CBM) y un confite adicionado de bagazo de mango y extrudido (CE). Los resultados mostraron que el procesamiento por extrusión tiene efecto significativo en el contenido de ácido fenoles y xantonas. La absorción de los flavonoides se vio afectada por el proceso de extrusión. La absorción de los ácidos fenólicos se vio favorecida por el proceso de extrusión así como por la matriz alimentaria. Se identificaron diversos grupos de compuestos fenólicos presentes tanto en el BM, CBM y CE. Por lo que se puede concluir que la matriz alimentaria así como el proceso de extrusión contribuyen con la bioaccesibilidad de los compuestos polifenólicos de un confite adicionado con bagazo de mango.

Palabras clave: Bagazo de mango, confite funcional, biotransformación, bioaccesibilidad, compuestos polifenólicos, extrusión.

SUMMARY

In the production of some foods, by-products rich in nutraceutical compounds are generated, so their use in the production of functional foods is sought. However, it is not enough that they contain these bioactive compounds but that they reach the target organs to perform their function. In particular, it is essential to know the changes they undergo during their passage in the gastrointestinal tract as well as to know the mechanisms by which they can be absorbed. The aforementioned can be regulated by providing a food matrix and by the processing to which they are subjected. In previous studies, an added mango bagasse confection was developed which presented a high bioaccessibility of phenolic and flavonoid compounds. It was also observed that the non-digestible fraction contributes to the formation of short chain fatty acids. However, it was not explained whether this behavior was due to the food matrix or to the extrusion processing to which it was subjected. That is why the objective of the present work was to determine the changes in the biotransformation of the polyphenolic compounds of a functional confection added with mango bagasse subjected to extrusion. To this end, the mango bagasse (BM), a confection added with mango bagasse (CBM) and an added confection of mango bagasse and extruded (EC) were subjected to *in vitro* gastrointestinal digestion. The results showed that extrusion processing has a significant effect on the acid content of phenols and xanthenes. Flavonoid absorption was affected by the extrusion process. The absorption of phenolic acids was favored by the extrusion process as well as by the food matrix. Various groups of phenolic compounds present in BM, CBM and CE were identified. Therefore, it can be concluded that the food matrix as well as the extrusion process contribute to the bioaccessibility of the polyphenolic compounds of a confection added with mango bagasse.

Keywords: Mango Bagasse, functional confectionary, biotransformation, bioaccessibility, phenolic compounds, extrusion

AGRADECIMIENTOS

*“Esto que te doy Señor es mi trabajo, es mi corazón, mi alma, mi cuerpo, mi razón,
el esfuerzo de mi caminar”*

A mis padres, por creer en el camino profesional que he elegido y brindarme las herramientas para superarme en ella.

A la Dra. Marcela Gaytán por creer en mis capacidades para desarrollar el proyecto desde la licenciatura, apoyarme en los obstáculos que se presentaron, pero más importante, brindarme su confianza y amistad en este tiempo.

A mis sinodales, la Dra. Rocio Campos, la Dra. Aurea Ramírez, el Dr. Abraham Wall y la Dra. Flavia Loarca, por brindarme la confianza de trabajar a su lado, el apoyo y las herramientas para destacar en el ámbito y la amistad al preocuparse por mi persona siempre.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por el apoyo brindado para realizar este posgrado y otorgarme la Beca mixta para realizar las estancias de investigación.

A la UAQ por ser mi alma mater y brindarme un espacio donde me he podido desarrollar profesionalmente y personalmente. Especialmente al PROPAC.

Al Centro de Biotecnología FEMSA del ITESM, por permitirme trabajar en sus instalaciones, especialmente a la Dra. Janeth Gutiérrez, la Dra. Marilena Antunes y a los compañeros del grupo de nutriOMICS por recibirme en su equipo de trabajo.

Al laboratorio de Global Nutrition en la University of Illinois at Urbana-Champaign, por permitirme trabajar en sus instalaciones, especialmente al Dr. Juan Andrade y la Dra. Astrid Domínguez.

A mi prima Katya por creer siempre en mis ideales, impulsarme a la aventura y cuidarme en el camino.

A mis amigos Cristian Juárez, Gabriela Moguel, Camila Navarro y Karen Nieto, por permitirme recorrer este camino a su lado, empatizar en los momentos de mayor debilidad y celebrar los triunfos a su lado.

A la mejor red de apoyo, mis amigos Delia, Mariel, Alejandra, Rosy, Tete, Arlette Edyira, Gaby y Tix por tener siempre un momento para escucharme, quererme lo suficiente para corregirme y brindarme su apoyo constante.

A mis amigos de trabajo, Adri, Angel, Erick, Lupita, Liceth, Ivan, Jhonnahan, Eli, Joel, Moni, Nancy, Vanessa, Norma, Diego, Rodrigo, Anna, Emely, Marco Toc y Ece por todas las alegrías vividas a su lado. Fui muy feliz al trabajar con ustedes y apoyar mis locuras.

CONTENIDO

I. INTRODUCCIÓN	1
II. ANTECEDENTES	3
2.1 Generalidades del mango	3
2.1.2 Consumo y procesamiento	3
2.1.3 Generalidades del bagazo de mango	4
2.2 Compuestos nutracéuticos.....	5
2.2.1 Compuestos polifenólicos	6
2.2.1.1 Ácidos fenólicos	10
2.2.1.2 Flavonoides.....	11
2.2.1.3 Xantonas.....	12
2.2.1.4 Galotaninos.....	12
2.2.2 Fibra.....	13
2.2.2.1 Fibra antioxidante.....	14
2.3 Alimentos funcionales	15
2.3.1 Alimentos funcionales a base de subproductos	16
2.4 Digestión gastrointestinal	17
2.4.1 Bioaccesibilidad, biodisponibilidad y biotransformación.....	19
2.5 Extrusión y su efecto en los compuestos polifenólicos	21
2.6 Confite adicionado con bagazo de mango	22
III JUSTIFICACIÓN	24
IV HIPÓTESIS	25
V OBJETIVOS	25
5.1 Objetivo general.....	25
5.2 Objetivos particulares.....	25
VI METODOLOGÍA.....	26
6.1 Estrategia experimental	26
6.2 Materiales	27
6.3 Elaboración del confite.....	27
6.3.1 Obtención del bagazo de mango	27

6.3.2 Elaboración del confite adicionado con bagazo de mango extrudido y el confite adicionado con bagazo de mango no extrudido	28
6.4 Análisis proximal	29
6.5 Digestión gastrointestinal <i>in vitro</i>	29
6.5.1 Simulación de condiciones de boca (etapa oral).....	30
6.5.2 Simulación de condiciones de estómago (etapa gástrica)	31
6.5.3 Simulación de condiciones de intestino delgado (etapa intestinal)	31
6.5.3.1 Sacrificio de animales	32
6.5.3.2 Técnica del saco intestinal invertido utilizando ratas.....	32
6.5.3.3 Determinación del coeficiente de permeabilidad.....	32
6.6 Determinación y cuantificación de compuestos fenólicos	33
6.6.1 Extracción de compuestos fenólicos libres y ligados	34
6.6.2 Identificación y cuantificación de compuestos polifenólicos mediante HPLC-DAD y LC/MS-TOF	34
6.7 Determinación de la capacidad antioxidante por el método DPPH y ABTS.....	35
6.8 Diseño experimental y análisis estadístico.....	36
VII RESULTADOS Y DISCUSIONES	37
7.1 Composición proximal	37
7.2 Contenido de polifenoles libres y ligados y capacidad antioxidante.....	39
7.3 Contenido de polifenoles y capacidad antioxidante durante digestión gastrointestinal <i>in vitro</i>	46
7.4 Permeabilidad aparente, coeficiente de permeabilidad y flujo durante la etapa intestinal.....	62
7.5 Identificación de compuestos polifenólicos.	66
7.6 Determinación de la biotransformación.....	69
VIII CONCLUSIONES	83
IX BIBLIOGRAFÍA.....	84

ÍNDICE DE TABLAS

Cuadro 1. Composición nutricional del bagazo de mango	5
Cuadro 2. Clasificación de los compuestos polifenólicos en base a su estructura básica.....	7
Cuadro 3. Principales compuestos polifenólicos de mango variedad Ataulfo.	9
Cuadro 4. Composición de fenoles de los subproductos del mango.....	10
Cuadro 5. Etapas de la digestión gastrointestinal y su efecto en los diferentes nutrientes.	18
Cuadro 6. Análisis proximal del bagazo de mango, del confite adicionado con bagazo de mango y del confite adicionado con bagazo de mango y extrudido.	37
Cuadro 7. Capacidad antioxidante de los compuestos polifenólicos libres y ligados.....	45
Cuadro 8. Capacidad antioxidante durante la digestión gastrointestinal <i>in vitro</i> en la etapa oral y gástrica	51
Cuadro 10. Cambios en la permeabilidad aparente de los compuestos polifenólicos durante la etapa intestinal.	62
Cuadro 11. Cambios en la permeabilidad aparente neta y el flujo de los compuestos polifenólicos durante la etapa intestinal.	64
Cuadro 12. Caracterización de compuestos polifenólicos.....	67
Cuadro 13. Cambios en el porcentaje de variación en la etapa oral de la digestión gastrointestinal <i>in vitro</i>	70
Cuadro 14. Cambios en el porcentaje de variación en la etapa gástrica de la digestión gastrointestinal <i>in vitro</i>	72
Cuadro 15. Cambios en el porcentaje de variación en la etapa intestinal de la digestión gastrointestinal <i>in vitro</i>	77

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ejemplos de ácidos fenólicos.....	11
Figura 2. Estructuras de los flavonoides referencia.	12
Figura 3. Ejemplo de la estructura química de las xantonas.....	12
Figura 4. Ejemplo de la estructura química de los galotaninos	13
Figura 5. Compuestos comúnmente presentes o para elaborar alimentos funcionales.....	16
Figura 6. Marco general del proceso de liberación intestinal y absorción de compuestos fenólicos.....	20
Figura 7. Estrategia experimental	26
Figura 8. Contenido de ácidos fenólicos libres y ligados.....	40
Figura 9. Contenido de xantonas libres y ligadas.....	42
Figura 10. Contenido de flavonoides libres y ligados.....	44
Figura 11. Contenido de ácidos fenólicos y porcentaje de bioaccesibilidad en la etapa oral y gástrica de la digestión gastrointestinal <i>in vitro</i>	47
Figura 12. Contenido xantonas y porcentaje de bioaccesibilidad en la etapa oral y gástrica de la digestión gastrointestinal <i>in vitro</i>	48
Figura 13. Contenido flavonoides y porcentaje de bioaccesibilidad en la etapa oral y gástrica de la digestión gastrointestinal <i>in vitro</i>	49
Figura 14. Modelo del saco intestinal invertido.	51
Figura 15. Contenido ácidos fenólicos en la etapa intestinal de la digestión gastrointestinal <i>in vitro</i>	52
Figura 16. Contenido xantonas en la etapa intestinal de la digestión gastrointestinal <i>in vitro</i>	55
Figura 17. Contenido flavonoides en la etapa intestinal de la digestión gastrointestinal <i>in vitro</i>	57
Figura 18. Capacidad antioxidante en la etapa intestinal de la digestión gastrointestinal <i>in vitro</i> mediante el método DPPH.....	60
Figura 19. Capacidad antioxidante en la etapa intestinal de la digestión gastrointestinal <i>in vitro</i> mediante el método ABTS.....	61

I. INTRODUCCIÓN

Los compuestos polifenólicos están ampliamente distribuidos en alimentos de origen vegetal. El consumo de estos se ha relacionado con una reducción del riesgo de padecer enfermedades crónico no transmisibles, parcialmente atribuido a su capacidad antioxidante, acción antiinflamatoria y modulación de transducción de señales intracelulares.

Resulta importante comprender que para llevar a cabo su función en los tejidos de interés, el consumo de polifenoles es solo la parte inicial del proceso. En el tracto gastrointestinal, estos compuestos son sometidos a diferentes condiciones sufriendo transformaciones que modifican su estructura química inicial (parental); a este proceso se le conoce como biotransformación. Además, dependiendo de su naturaleza química, estos pueden estar también sujetos a distintos mecanismos de absorción. Dentro del organismo, los compuestos polifenólicos se comportan como xenobióticos con un destino renal muy rápido o bien, poder ser metabolizados por la microbiota colónica y ser transportados al hígado por la vena porta hepática donde nuevamente pueden sufrir transformaciones. Cabe señalar que en los órganos destino, los compuestos fenólicos también pueden sufrir cambios intracelulares.

El proceso anteriormente descrito ha sido definido por dos términos importantes: bioaccesibilidad y biodisponibilidad. La primera se refiere a la porción de un nutriente o cualquier otro fitoquímico (e.g. compuestos polifenólicos) que se liberan de la matriz alimentaria y esta potencialmente disponible para la absorción en el intestino delgado; esta matriz alimentaria es la forma física de un alimento y abarca las estructuras naturales de los materiales vegetales crudos, así como la organización compuesta que resulta del procesamiento industrial o en el hogar. Por otra parte el término *biodisponibilidad* incorpora a la absorción, el metabolismo, la distribución tisular de un nutriente/xenobiótico específico.

Por otra parte, los cereales, leguminosas, verduras y frutas son alimentos ricos en fibra dietética. Por definición, esta no puede ser digerida por las enzimas digestivas lo que limita su absorción en el tracto digestivo. Sin embargo, estudios

recientes demuestran que diferentes compuestos están unidos a ella y el tipo de fibra dietaría puede afectar la absorción y los efectos benéficos de ambos componentes. Algunos autores han propuesto el término fibra dietaría antioxidante, ésta es la fibra que se asocia a compuestos con capacidad antioxidante como los son los compuestos polifenólicos. Desde entonces dicha asociación se ha estudiado observándose que resulta benéfica la llegada de estos compuestos al colon, mientras la fibra es fermentada, los compuestos fenólicos permanecen en el tejido del colon eliminando los radicales libres y contrarrestando los efectos pro-oxidantes de la fibra dietética.

Con respecto al mango (*Mangifera indica* L.), múltiples estudios se han realizado para conocer su composición de fibra dietaría en la pulpa, la semilla y la cáscara así como su composición de compuestos polifenólicos. Si bien estas propiedades se pueden aprovechar en el consumo de productos procesados de mango, una desventaja es que se generan subproductos que también son ricos en estas características, de ello deriva el creciente interés de utilizar estos (cáscara, hueso y bagazo) para elaborar alimentos funcionales. En un estudio reciente nosotros formulamos un confite adicionado con bagazo de mango donde no solo se estudió la cantidad de compuestos polifenólicos, sino que también se evaluó la bioaccesibilidad y permeabilidad aparente de estos compuestos. Se observó que los polifenoles predominantes en el producto elaborado fueron el ácido gálico, la mangiferina y la quercetina. Durante el paso por el tracto gastrointestinal las concentraciones de estos cambiaron, aumentando principalmente en la zona del intestino delgado y disminuyendo drásticamente en el colon, tanto la mangiferina como el ácido gálico fueron permeados hacia el lumen del intestino delgado. Esto permitió sugerir que los polifenoles presentes pueden estar siendo trasportados a torrente sanguíneo ya sea por absorción intestinal o bien por la vena porta hepática. Por otra parte también, se sugiere que otros polifenoles presentes pueden estar siendo biotransformados y permitir su bioaccesibilidad y permeabilidad aparente. Sin embargo, estas aseveraciones no han sido evaluadas.

II. ANTECEDENTES

2.1 Generalidades del mango

En el 2003 el estado mexicano reconoció al mango de la variedad Ataulfo del Soconusco de Chiapas, como denominación de origen gracias a su gran calidad e inigualable sabor. Es desde entonces que se ha buscado el aumento de exportaciones del mango. Para el 2016, México se posicionó como el quinto productor de mango a nivel mundial con un volumen de 1.88 millones de toneladas de las cuales el 1.53 se destinaron a consumo nacional y 0.36 a exportaciones principalmente a Canadá y Estados Unidos. Así mismo fue el primer exportador a nivel mundial superando a India, que en años anteriores se posicionaba como líder en este ramo. Los principales estados productores son Yucatán, Campeche, Quintana Roo, Tabasco, Chiapas, Oaxaca y Veracruz. En una proyección planificada se busca consolidar a México en el 2030 como el mayor exportador de mango para Estados Unidos, Canadá y Japón, así mismo, expandir en la Unión Europea y desarrollarse en Vietnam y Corea del Sur (SAGARPA, 2017).

2.1.2 Consumo y procesamiento

Debido a que el mango es un fruto climatérico, su manejo pos-cosecha requiere que se corte en estadios tempranos de maduración para su mayor vida de anaquel. Del total de la producción de este fruto, el 13.5% se destina a la industrialización, principalmente a la elaboración de jugos, conservas, néctares, derivados secos (Wall-Medrano et al., 2015). Los pasos básicos para la obtención de la mayoría de los productos mencionados anteriormente son (Murillo, 2014):

- a) Recepción y selección
- b) Lavado
- c) Escaldado
- d) Pelado y troceado
- e) Despulpado
- f) Tratamiento térmico

- g) Aditivos
- h) Envasado
- i) Enfriamiento

Así mismo, la industria de los alimentos mínimamente procesados ha reforzado a la agroindustria del mango, presentando un crecimiento exponencial, sin embargo, existen varios problemas en cuanto a la vida de anaquel, calidad microbiológica y generación de subproductos (Wall-Medrano et al., 2015).

Los principales subproductos generados del procesamiento del mango son la cáscara, la semilla y el bagazo (comúnmente conocido como pasta) y representan del 50 al 55 % del pesos total de la fruta (Sáyago-Ayerdi, Zamora-Gasga, & Venema, 2017). El primero de ellos representa del 7 – 24 % del peso total de la fruta. Su importante contenido de fitoquímicos, polifenoles, carotenoides, enzimas, vitamina E y C le confieren propiedades antioxidantes las cuales han despertado el interés de la comunidad científica. Así mismo, se ha reportado que es rica en fibra dietética, celulosa, hemicelulosa, lípidos, proteínas y pectinas los cuales son buenos acarreadores de compuestos benéficos para la salud. La semilla o hueso del mango representa del 45 – 85% del peso total dependiendo de la variedad. El interés en este subproducto radica principalmente en el contenido de grasas que presenta similares a las de la manteca de cacao y a que no contiene ácidos grasos trans (Jahurul et al., 2015).

1.1.3 Generalidades del bagazo de mango

Si bien los principales subproductos obtenidos del procesamiento del mango son la cáscara y la semilla, existe otro que se genera del despulpado y refinado del mango para la elaboración del jugos y néctares, el bagazo de mango, el cual representa la parte fibrosa de la fruta. De los estudios que se han realizado sobre esta fracción, en **Cuadro 1** se muestra su contenido proximal, donde se observa un alto contenido de humedad y carbohidratos de los cuales la mayoría es fibra dietética, así como un bajo contenido de grasas y proteína. Por otra parte, se

sabe que es rico en compuestos fenólicos como mangiferina, quercetina y ácido gálico los cuales pueden ser responsables de su alta capacidad antioxidante reportada (Herrera-Cazares, Hernández-Navarro, et al., 2017).

Cuadro 1. Composición nutricional del bagazo de mango

Macronutriente	Porcentaje
Humedad	60.5
Proteína	2.5
Lípidos	3.0
Carbohidratos	87.5
Minerales	6.9
Fibra dietaría	83.9

Fuente: Herrera-Cazares et al.,(2017)

Así mismo, estudios previos muestran que es una matriz altamente fermentable por las bacterias presentes en el colon propiciando la producción de ácidos grasos de cadena corta como el ácido butírico, propiónico y acético, por lo cual se ha sugerido puede ser catalogado como una fibra dietética y la cual puede contener antioxidantes (Herrera-Cazares et al., 2019).



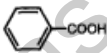
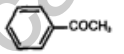
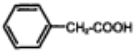
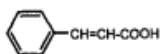
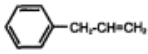
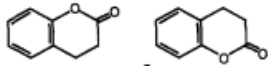
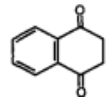
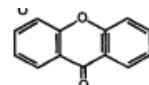
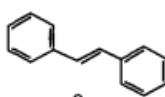
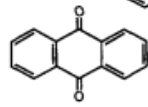
2.2 Compuestos nutraceuticos

El termino nutraceutico es usado para describir cualquier producto derivado de una fuente alimenticia, el cual se espera proporcione beneficios médicos y a la salud. Los compuestos nutraceuticos (proteínas, aminoácidos, ácidos grasos fibra y antioxidantes) pueden ser extraídos de diversas fuentes naturales y proveer de beneficios extras a la salud al incluirse en fármacos o matrices alimentarias (Moldes, Vecino, & Cruz, 2016).

2.2.1 Compuestos polifenólicos

Los compuestos polifenólicos son un segundo metabolito derivado de las rutas metabólicas de la pentosa fosfato, fenilpropanoíl y ácido shikímico llevadas a cabo en las plantas. Su propósito es proveer de protección a la planta de agentes patógenos y predadores, así mismo, contribuyen características de color y sabor a las frutas y vegetales (Bravo, 1998). La clasificación de los compuestos polifenólicos se muestra en la **Cuadro 2**, esta se realiza en base a la complejidad de sus estructuras químicas. En general, comprenden un anillo aromático unido a uno a más grupos hidroxilos (Balasundram, Sundram, & Samman, 2006).

Cuadro 2. Clasificación de los compuestos polifenólicos en base a su estructura básica.

Clase	Número básico de carbonos	Estructura básica
Fenoles simples	C_6	
Benzoquinonas	C_6	
Ácidos fenólicos	$C_6 - C_1$	
Acetofenonas	$C_6 - C_2$	
Ácidos fenilaceticos	$C_6 - C_2$	
Ácidos hidroxicinamicos	$C_6 - C_3$	
Fenilpropenos	$C_6 - C_3$	
Coumarinas e Isocoumarinas	$C_6 - C_3$	
Naftoquinonas	$C_6 - C_4$	
Xantonas	$C_6 - C_1 - C_6$	
Stibenos	$C_6 - C_2 - C_6$	
Araquinonas	$C_6 - C_2 - C_6$	
Flavonoides	$C_6 - C_3 - C_6$	
Lignanós	$(C_6 - C_3)_2$	

Fuente: Rice-Evans et al., (1997).

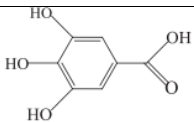
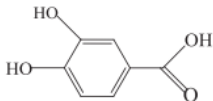
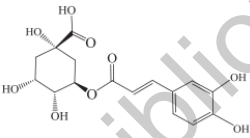
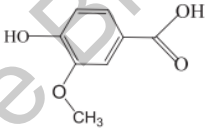
La importancia de estudiar los compuestos polifenólicos radica en su estructura, ya que les proporciona la capacidad de actuar como agentes donantes de hidrógeno o de electrones, de tal modo que poseen un potencial de acción como inhibidores de radicales libres, mejor conocido como capacidad antioxidante, esta es dada por diferentes factores (Rice-Evans, Miller, & Paganga, 1997):

- Su potencial reductor, es decir, por su capacidad para donar electrones.
- El destino del radical resultante derivado de antioxidantes, es decir, su capacidad para estabilizar y deslocalizar el electrón desapareado.
- Su reactividad con otros antioxidantes.
- El potencial de quelante del metal de transición.

La capacidad antioxidante de los compuestos polifenólicos ha despertado el interés de los investigadores desde hace años. Específicamente en la ciencia de los alimentos, el término antioxidante se relaciona a la inhibición de la peroxidación lipídica de los mismos. Por otra parte, existe evidencia convincente de que el desarrollo de algunas enfermedades se asocian con el efecto dañino de especies reactivas de oxígeno como el anión superóxido, el peróxido de hidrógeno, el radical hidroxilo y el oxígeno singulete. Debido a esto se ha ampliado el estudio del efecto de los polifenoles sobre dichos radicales, proponiéndolos como compuestos nutracéuticos al prevenir dichas enfermedades (Robards, Prenzler, Tucker, Swatsitang, & Glover, 1999).

El mango es una importante fuente de compuestos polifenólicos como se muestra en el **Cuadro 3**. La cantidad y tipo de plifenoles que contiene el mango depende de la variedad que sea estudiada así como de su estado de madurez (Palafox-Carlos, Yahia, & González-Aguilar, 2012).

Cuadro 3. Principales compuestos polifenólicos de mango variedad Ataulfo.

Compuesto	Estructura	Concentración en extracto metanólico (µg/mL)
Ácido gálico		57
Ácido protocateico		0.61
Ácido clorogénico		177
Ácido vainillico		14

Fuente: Palafox-Carlos et al., (2012).

Si bien se han estudiado principalmente los compuestos de la pulpa, néctar o jugo de mango, en la actualidad ha cobrado interés el contenido de ellos en la cascara, la semilla y el bagazo de mango para buscar su aprovechamiento, algunos de estos datos se muestran en el **Cuadro 4.**

Cuadro 4. Composición de fenoles de los subproductos del mango

Variedad de mango	Parte del mango	Contenido de fenoles totales
Raspuri y Badami	Piel/ cáscara	8.1-29.5 mg/g
Ataulfo	Piel/bagazo/ semilla	102.0 mg EAG/g
Tommy Atkins	Semilla/ hueso	11,228-20,034 mg/100g
Ataulfo	Bagazo	95.7 mg EAG/g
Ataulfo	Bagazo	9.73 mg/100g

Fuente: (Ajila & Prasada Rao, 2013), (Amaya-Cruz et al., 2015), (Sogi, Siddiq, Greiby, & Dolan, 2013), (Herrera-Cazares, et al., 2017) y (Blancas-Benitez et al., 2015).

2.2.1.1 Ácidos fenólicos

Estructuralmente, los ácidos fenólicos comprenden un anillo aromático con uno o más sustituyentes del grupo hidroxilo. Constituyen dos subgrupos (Balasundram et al., 2006):

- Los ácidos hidroxibenzoicos: Se incluye el ácido gálico, el ácido *p*-hidroxibenzoico, el ácido protocateico, el ácido vainillico y el ácido siringico, estos tienen en común una estructura C6-C1.
- Los ácidos hidroxicinamicos: son compuestos aromáticos con tres carbonos unidos (C6-C3), ejemplo de estos son el ácido cafeico, el ácido ferúlico, el ácido *p*-coumarico y el ácido sinápico.

Las diferencias que presentan en base a su estructura pueden observarse en la **Figura 1**. Comúnmente estos están conjugados con mono o polisacáridos, vinculados a uno o más grupos fenólicos o también con derivados funcionales como ésteres y ésteres de metilo (Bravo, 1998).

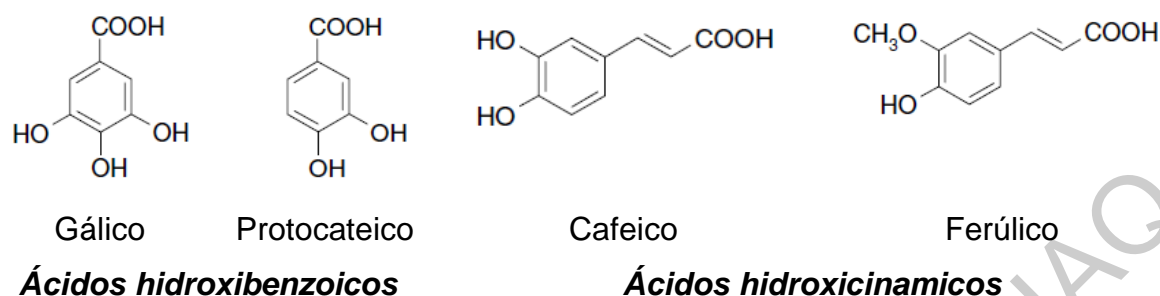


Figura 1. Ejemplos de ácidos fenólicos.

Fuente: Bravo, (1998).

2.2.1.2 Flavonoides

Los flavonoides son compuestos que en la naturaleza se encuentran generalmente glicosilados, esto les resta reactividad pero los hace más solubles en agua. Su estructura generalmente está compuesta por varios grupos funcionales hidroxifenólicos unidos a la estructura del anillo, denominado A, B y C. Como se muestra en la **Figura 2**, sus variaciones hacen que se puedan agrupar en grandes familias:

- Flavonoles: con un grupo 3-hidroxipiran-4-fenol en el anillo C.
- Flavonas: carece del grupo 3-hidroxil.
- Flavanoles: carecen del doble enlace 2-3 y del grupo cetónico en la posición 4 del anillo C.
- Isoflavonas: el anillo B está localizado en la posición 3 del anillo C

Los azúcares que comúnmente se han encontrado unidos a los flavonoides son la ramnosa, glucosa, xilosa, arabinosa y galactosa (Rice-Evans et al., 1997).

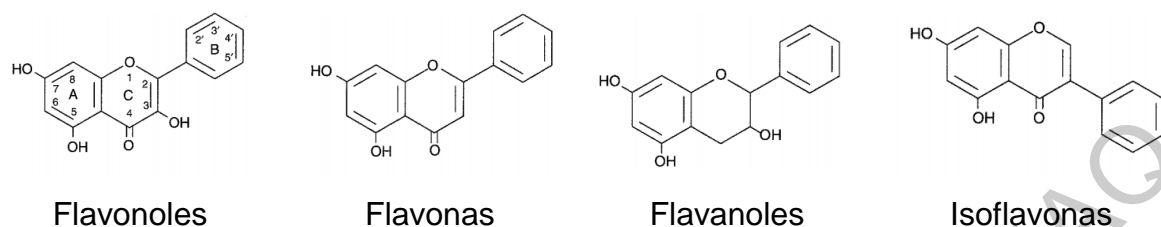
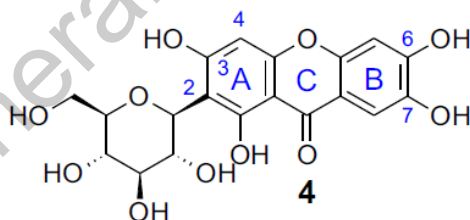


Figura 2. Estructuras de los flavonoides referencia.

Fuente: Rice-Evans et al., (1997).

2.2.1.3 Xantonas

Las xantonas son compuestos bioactivos con una estructura química compuesta por un sistema aromático tricíclico $C_6-C_3-C_6$ con unidades de hidroxilo, metoxilo e isopropeno unidas a los anillos aromáticos A y B que dan como resultado una amplia gama de compuesto, aunque estos se presentan recurrentemente como éteres o glucosidados, ejemplo de esta estructura se muestra en la **Figura 3** (Burton-Freeman, Sandhu, & Edirisinghe, 2017).



Mangiferina

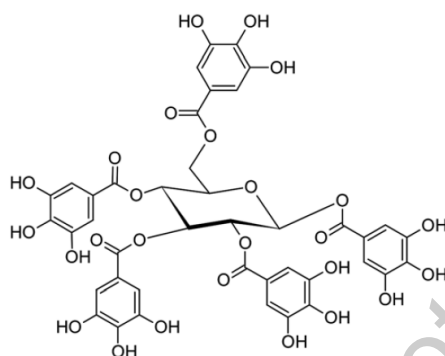
Figura 3. Ejemplo de la estructura química de las xantonas.

Fuente: Beelders, Beer, Ferreira, Kidd, & Joubert, (2017).

2.2.1.4 Galotaninos

Los galotaninos son clasificados como taninos hidrosolubles consisten en un grupo galoil sustituyendo completa o parcialmente los grupos hidroxilo de una molécula de glucosa, siendo esta la molécula central y resultando así una amplia gama de derivados de galotaninos, cabe mencionar que se han encontrado

algunos en donde la molécula central no es la glucosa. Otros derivados del ácido gálico incluyen formas conjugadas con grupos metilos ejemplos de estos se muestran en la **Figura 4** (Burton-Freeman et al., 2017).



Pentagaloiil glucosido

Figura 4. Ejemplo de la estructura química de los galotaninos

Fuente: Burton-Freeman et al.,(2017).

2.2.2 Fibra

El CODEX alimentario define la fibra dietética como polímeros de carbohidratos con 10 o más unidades monoméricas que no son hidrolizadas por las enzimas endógenas del intestino delgado de los humanos (Kirchner, Degenhardt, Raffler, & Nelson, 2012).

La clasificación que comúnmente se le da es de acuerdo a su solubilidad en agua: los polisacáridos no amiláceos (la pectina, los β -glucanos, los fructanos, oligosacáridos, algunas hemicelulosas, gomas y mucilagos) comprenden la fibra soluble, mientras que la fibra insoluble comprende la hemicelulosa, celulosa y ligninas (González-Aguilar, Blancas-Benítez, & Sáyago-Ayerdi, 2017).

Uno de los principales roles de la fibra dietética es ser sustrato de fermentación para las bacterias presentes en el colon produciendo varios compuestos como acetato, propionato y butirato, gases como CO_2 , aminas y fenoles. Así mismo generar energía y biomasa (Lee & Hase, 2014).

El consumo de fibra se ha relacionado directamente con beneficios a la salud en aspectos gastrointestinales como movilidad, tránsito intestinal, síndrome de colon irritable, enfermedad de Crohn, estreñimiento, enfermedades coronarias, efecto prebiótico, disminuir el índice glicémico y aumentar la saciedad (Saura-Calixto, 2011).

Es bien conocido que las frutas son una fuente de este macronutriente, sin embargo, en los últimos años el estudio de sus subproductos ha mostrado, en algunos casos, que estos son aún más ricos en fibra dietética, tal es el caso del bagazo de mango (c.v. Ataulfo) donde se ha reportado que más del 80% de éste se compone de fibra dietética, un poco más del 50% es fibra soluble mientras que el resto es insoluble (Blancas-Benitez et al., 2015; Herrera-Cazares, et al., 2017).

2.2.2.1 Fibra antioxidante

Si bien, las frutas son fuente de fibra dietética y compuestos antioxidantes, es importante reconocer que en estos alimentos los compuestos no se encuentran aislados uno del otro, esto es debido a que los polifenoles tienen anillos aromáticos hidrofóbicos y grupos hidrofílicos con la capacidad de unirse a polisacáridos y proteínas, a este tipo de complejos se le conoce como fibra dietética antioxidante (Saura-Calixto, 2011).

Es por ello que la fibra dietética puede ser considerada como una matriz alimentaria acarreadora, debido a que protege a los compuestos polifenólicos del medio gastrointestinal y llevarlos hasta el colon (González-Aguilar et al., 2017), donde pueden ser liberados por acción de las bacterias colónicas y transportados por la vena porta hepática al hígado y cumplir su función (Karabin, Hudcova, Jelinek, & Dostalek, 2014). Particularmente, este efecto se ha demostrado en un modelo *in vivo* utilizando subproductos de mango como el bagazo y la cáscara (Blancas-Benitez et al., 2015).

2.3 Alimentos funcionales

Los alimentos funcionales son aquellos que mejoran ciertas funciones fisiológicas para prevenir o incluso curar enfermedades (Roberfroid, 2000).

De acuerdo con el Instituto Internacional de las ciencias de la vida de Europa (ILSI, por sus siglas en inglés), un alimento funcional es:

- Un alimento que se consume convencionalmente en la dieta diaria.
- Se compone de compuestos naturales, a veces en mayor concentración o presente en alimentos que normalmente no lo suministran.
- Que se ha demostrado científicamente que promueve efectos positivos en las funciones objetivo más allá de la nutrición básica.
- Pensado para proporcionar una mejora del estado de bienestar y salud y/o reducir el riesgo de enfermedades.

Los métodos para la obtención de alimentos funcionales incluyen la adición de algún componente (ejemplos de estos se muestran en la **Figura 5**), modificación del procesamiento del alimento, ingeniería genética, etc. Permitiendo a la industria de los alimentos desarrollar productos con valor agregado (López-Varela, González-Gross, & Marcos, 2002).

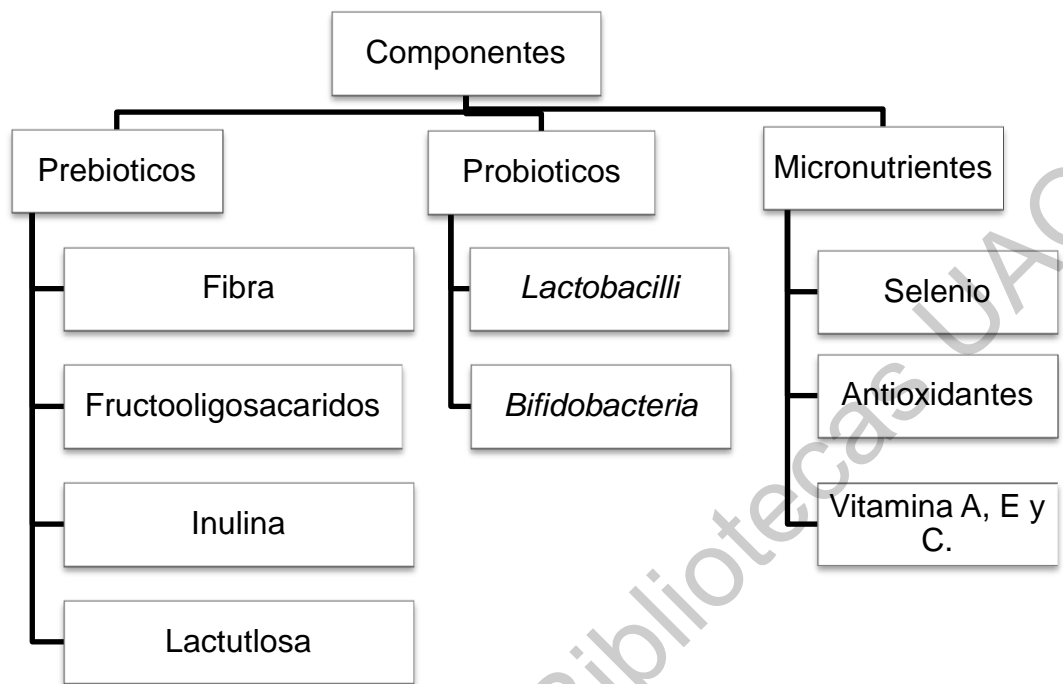


Figura 5. Compuestos comúnmente presentes o para elaborar alimentos funcionales.

Fuente: López-Valera et al., (2002).

2.3.1 Alimentos funcionales a base de subproductos

El procesamiento de alimentos genera cantidades de subproductos y desechos que tienen un impacto ambiental importante. Una de las soluciones propuestas es el aprovechamiento de estos con base en ciertas propiedades funcionales que poseen. Particularmente los subproductos generados del procesamiento de vegetales y frutas contienen altas cantidades de nutrientes de interés en la industria farmacéutica y alimentaria (Federici, Fava, Kalogerakis, & Mantzavinos, 2009). De una manera general, las cascaras de estos productos, pueden ser ricas en compuestos polifenólicos y fibra dietética, compuestos antimicrobianos y colorantes, las pulpas ricas en carotenoides y otros compuestos hidrófilos y la semilla en compuestos antioxidantes y lípidos (Ayala-Zavala et al., 2011).

Actualmente las investigaciones se centran en caracterizar los subproductos para la extracción de los compuestos funcionales o bien para la adición de estos en alimento comúnmente consumido, poco es lo reportado referente a la elaboración de alimentos funcionales debido a que se busca resguardar la información de formulaciones (Martins, Pinho, & Ferreira, 2017; Nunes, Pimentel, Costa, Alves, & Oliveira, 2016).

2.4 Digestión gastrointestinal

El sistema gastrointestinal es el encargado de preparar los alimentos ingeridos para que los nutrientes puedan ser incorporados al medio interno y llegar a todas las células para ejercer sus funciones de aporte de energía, estructurales y reguladores. Para realizar su función utiliza una serie de pasos los cuales se describen en el **Cuadro 5** (Velderrain-Rodríguez et al., 2014).

Cuadro 5. Etapas de la digestión gastrointestinal y su efecto en los diferentes nutrientes.

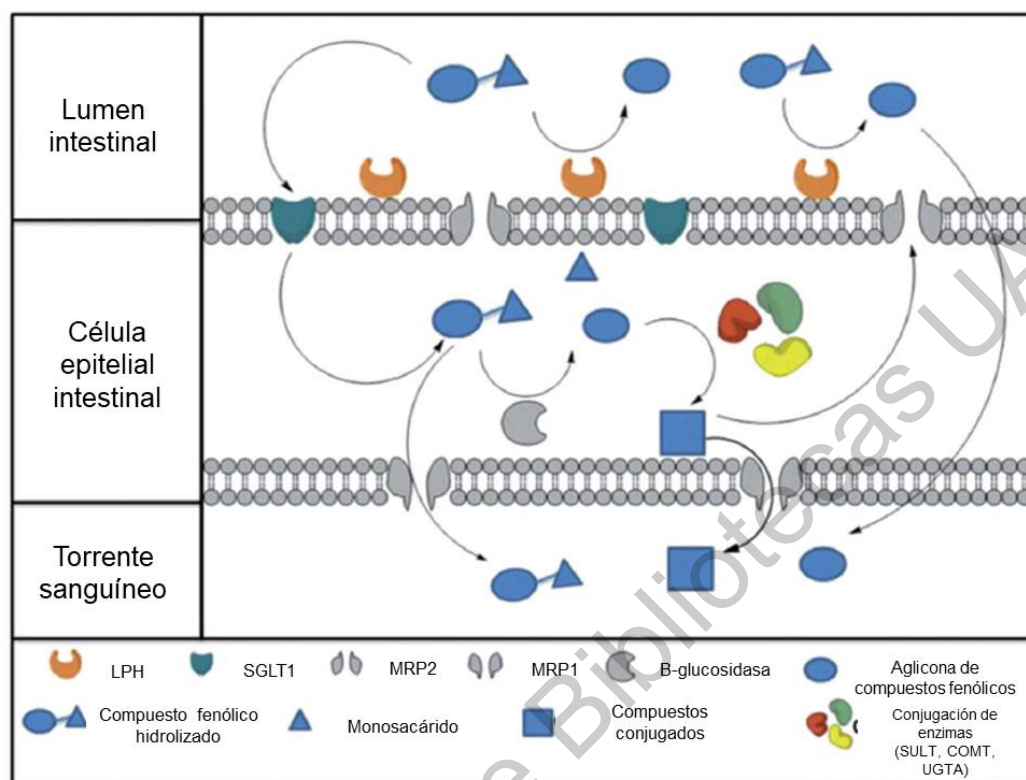
Etapas de la digestión gastrointestinal	Medio de la etapa	Efecto en los macronutrientes	Efecto en los polifenoles
Masticación en la boca	Efecto mecánico. Presencia de saliva (agua, electrolitos, proteínas, compuestos antibacteriales, hormonas, ácidos nucleicos, moléculas de nitrógeno, antioxidantes) y α -amilasa.	Los alimentos son triturados y la α -amilasa comienza la descomposición química del almidón. La porción de alimento que ha sido masticado en la boca se denomina bolo.	En presencia de proteínas algunos polifenoles pueden ser precipitados.
Digestión estomacal	Mezcla y agitación de los alimentos en un pH con un valor de dos. Presencia de ácido clorhídrico y la lipasa gástrica. Activación de la pepsina.	Desnaturalización de proteínas, activación de enzimas del tracto gastrointestinal y una mínima digestión de lípidos. Conversión del bolo en quimo.	Liberación de la matriz alimentaria. El ácido induce la hidrólisis y/o transformación de oligómeros de proantocianidinas así como la escisión de azúcares unidas a los polifenoles. Algunos ácidos fenólicos pueden ser absorbidos.
Digestión en el intestino delgado	Cambio de pH a valores de 7 a 7.2. Presencia de enzimas procedentes del páncreas y bilis segregada de la vesícula biliar.	El quimo se descompone en pequeñas moléculas que el cuerpo absorbe a la circulación. Emulsión de lípidos en glóbulos pequeños y acción de la bilis y la lipasa pancreática. Digestión de hidratos de carbono por acción de la amilasa pancreática y de proteínas por acción de la proteasa.	Las antocianinas y flavonoides son inestables en medios alcalinos. Polifenoles glucosidados y aglicones pueden ser absorbidos por diferentes mecanismos. Pueden ser reconocidos como xenobioticos e inducir su pronta excreción.
Fermentación colónica	Residen bacterias fermentadoras.	La fibra soluble es fermentada por las bacterias generando metabolitos como ácidos grasos de cadena corta.	Pueden modular la diversidad microbiana. Las enzimas microbianas forman ácidos fenólicos simples.

Fuente: Velderrain-Rodríguez et al., (2014).

2.4.1 Bioaccesibilidad, biodisponibilidad y biotransformación.

Es importante comprender que para llevar a cabo su función en los tejidos de interés, el consumo de polifenoles es sólo la parte inicial del proceso, los compuestos son sometidos a las diferentes condiciones del sistema gastrointestinal donde sufren o no reacciones que modifican su estructura química, a este proceso se le conoce como biotransformación (Karabin et al., 2014).

Dependiendo de la estructura química que puedan presentar los polifenoles, las células del intestino delgado utilizan diferentes mecanismos de absorción. En la **Figura 6** se muestran los mecanismos generales en los que se puede llevar a cabo. Cabe mencionar que muchos de ellos pueden no ser absorbidos y ser secretados por la orina debido a que son reconocidos como xenobióticos (Velderrain-Rodríguez et al., 2014) o bien poder ser metabolizados por la microbiota colónica para posteriormente ser transportados al hígado por la vena porta hepática donde nuevamente pueden sufrir transformaciones (Karabin et al., 2014).



LPH, lactasa florizina hidrolasa; SGLT1, transportador dependiente de sodio; MRP proteína asociada de multiresistencia; SULT, sulfotransferasa; COMT, catecol-o-metiltransferasa; UGTA, UDP glucuronosil transferasa, todas las anteriores por sus siglas en inglés.

Figura 6. Marco general del proceso de liberación intestinal y absorción de compuestos fenólicos.

Fuente: Velderrain-Rodríguez et al., (2014).

Ya sea por la vena porta al hígado o por absorción en el intestino, los polifenoles son transportados al torrente sanguíneo por difusión pasiva, por transportadores apicales y baso laterales multifármaco/ lipídicos (apical and basolateral multi-drug/lipid transporters) o transformados a metabolitos de fase II (Velderrain-Rodríguez et al., 2014). Una vez en el torrente sanguíneo se distribuyen a los tejidos destino donde son absorbidos por la célula y donde también pueden sufrir cambios intracelulares (Karabin et al., 2014).

El proceso anteriormente descrito comprende dos términos importantes (Grundy et al., 2016):

La bioaccesibilidad se refiere a la porción de un nutriente o cualquier otra sustancia que se liberan de la matriz del alimento y está potencialmente disponible para la absorción en el intestino delgado. Esta matriz alimentaria es la forma física de un alimento y abarca las estructuras naturales de los materiales vegetales crudos, así como la organización compuesta que resulta del procesamiento industrial o en el hogar. Por otra parte, la definición de biodisponibilidad incorpora la absorción, el metabolismo, distribución tisular y acción biológica de un nutriente específico (Velderrain-Rodríguez et al., 2014).

2.5 Extrusión y su efecto en los compuestos polifenólicos

La extrusión es un proceso que implica altas temperaturas y tiempos cortos (HTST por sus siglas en inglés), donde el alimento con un contenido de humedad específico se alimenta en un tornillo sin fin por lo que la combinación de humedad, presión, temperatura y cizallamiento mecánico resultan en transformaciones a nivel molecular del alimento, reacciones químicas, ruptura de enlaces covalentes, modificación estructural de la matriz alimentaria, lo que modifica las propiedades funcionales de los ingredientes del alimento (Dalbhagat, Mahato, & Mishra, 2019; Singh, Gamlath, & Wakeling, 2007).

Un extrusor tiene tres componentes principales: alimentación, donde se introducen los ingredientes y se produce la mezcla inicial. El transporte de los ingredientes a través de tornillos sin fin y que puede generar compresión. En esta sección es donde se genera la mayoría de cambios en los alimentos generados por la temperatura y el trabajo mecánico. A medida que disminuyen las dimensiones del canal de flujo, el material se comprime y la energía mecánica se disipa a medida que aumenta la temperatura. Finalmente, en la sección de medición (o cocción), se produce una compresión adicional del producto extruido como resultado de reducciones adicionales en las dimensiones del canal de flujo y una mayor acción de cizallamiento (Contreras-Jiménez et al., 2017).

En los últimos años, los investigadores han utilizado esta tecnología emergente para la incorporación de nuevos ingredientes, como los son los subproductos de frutas y verduras, en el desarrollo de alimentos que puedan mejorar la calidad nutricional de dicho producto, aumentando la biodisponibilidad de compuestos bioactivos (Alam, Kaur, Khaira, & Gupta, 2015).

Los efectos del procesamiento de extrusión en los compuestos polifenólicos que se han observado son variados, pero completamente dependiente de las condiciones del proceso. Por ejemplo, a bajas temperaturas de procesamiento, se ha observado un aumento en el contenido de compuestos polifenólicos totales, debido a que se genera un estrés hídrico, lo que conlleva a un rompimiento de la matriz y con ello la exposición de los polifenoles unidos a ella (Shahidi & Yeo, 2016). Por otra parte, dichos compuestos tienen una baja resistencia al calor, por lo que a altas temperaturas, estos pueden de-carboxilarse y propiciar la polimerización de los mismos lo que conlleva a una pérdida de sus propiedades antioxidantes. Así mismo el cizallamiento, la velocidad del proceso y el tiempo de residencia son factores que se han visto, están involucrados en el cambio de la estructura de la matriz donde dichos compuestos están embebidos (Nayak, HAI Lui & Tang, 2015). Conociendo estos efectos, se ha buscado utilizar esta la tecnología de extrusión para mejorar la bioaccesibilidad de estos compuestos de interés y así influenciar en la biodisponibilidad de los mismos al ser consumidos.

2.6 Confite adicionado con bagazo de mango

Anteriormente en el grupo de trabajo, se formuló un confite adicionado con bagazo de mango, con la finalidad no solo de proporcionarle un valor agregado, sino también de brindar a la población infantil un alimento rico en fibra dietaria y compuestos polifenólicos (Zavala, 2018).

En dicha formulación, se buscó que los polifenoles fueran mayormente accesibles que en el bagazo de mango, por lo cual se optó por utilizar la extrusión como medio de liberación de estos compuestos (Hernández-Navarro, 2015).

En este sentido, ambas muestras, el bagazo de mango y el confite, presentaron en su composición ácido gálico, mangiferina y quercetina, fueron sometidos a una digestión gastrointestinal *in vitro*. En cada etapa de este proceso, oral, gástrica, intestinal y colónica, se siguió la concentración de dichos compuestos y con ello se observó que el porcentaje de bioaccesibilidad fue mayor en el confite comparado con el bagazo de mango, principalmente el ácido gálico y la mangiferina fueron permeados al lumen intestinal en dicha etapa.

Estos resultados permitieron sugerir que, el cambio de la concentración de los compuestos en cada etapa de la digestión gastrointestinal *in vitro*, podría deberse a la biotransformación que sufren los compuestos y que esta misma podría estar influenciando en su absorción en la etapa intestinal.

Además, es importante considerar que los cambios en la bioaccesibilidad podrían deberse al cambio de matriz alimentaria, a la composición del producto y/o al proceso de extrusión que se llevó a cabo para elaborar el alimento. Sin embargo estos tratamientos no fueron evaluados (Herrera-Cazares, et al., 2017).

III JUSTIFICACIÓN

El bagazo de mango, un subproducto generado por el alto consumo de jugos y néctares en México, es rico en fibra dietaria y compuestos polifenólicos, algunos de ellos pueden estar unidos a este nutriente. Dichos compuestos resultan atractivos en la elaboración de alimentos funcionales debido a que su consumo está relacionado con beneficios a la salud. Sin embargo, para la formulación de dicho alimento es importante comprobar si los polifenoles cumplirán su función. Sobre estas bases, el grupo de trabajo formuló un confite adicionado con bagazo de mango y sometido a un proceso de extrusión, con la finalidad de mejorar la bioaccesibilidad de los polifenoles durante una digestión gastrointestinal *in vitro*; donde se demostró que ácido gálico, mangiferina y quercetina procedentes del bagazo de mango son liberados en las diferentes etapas de la digestión gastrointestinal siendo aparentemente absorbibles en la etapa intestinal. Sin embargo, no se comprobó cómo el proceso de extrusión, así como un cambio de matriz alimentaria afectaría la bioaccesibilidad, biotransformación y absorción de los compuestos.

IV HIPÓTESIS

La extrusión de un confite funcional adicionado con bagazo de mango tiene efecto sobre la accesibilidad de los compuestos polifenólicos que pueden ser biotransformados y absorbidos durante la digestión gastrointestinal *in vitro*.

V OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

Determinar los cambios en la biotransformación de los compuestos polifenólicos de un confite funcional adicionado con bagazo de mango sometido a extrusión.

5.2 Objetivos particulares

Caracterizar el perfil de compuestos polifenólicos del bagazo de mango, de un confite adicionado con bagazo de mango no extrudido y de un confite adicionado con bagazo de mango extrudido.

Determinar la bioaccesibilidad de los compuestos polifenólicos del bagazo de mango, de un confite adicionado con bagazo de mango no extrudido y de un confite adicionado con bagazo de mango extrudido en cada etapa de una digestión gastrointestinal *in vitro*.

Determinar la biotransformación de los compuestos polifenólicos del bagazo de mango, de un confite adicionado con bagazo de mango no extrudido y de un confite adicionado con bagazo de mango extrudido en cada etapa de una digestión gastrointestinal *in vitro*.

VI METODOLOGÍA

6.1 Estrategia experimental

En la **Figura 7** se presenta la un diagrama de la estrategia experimental llevada a cabo en el presente trabajo.

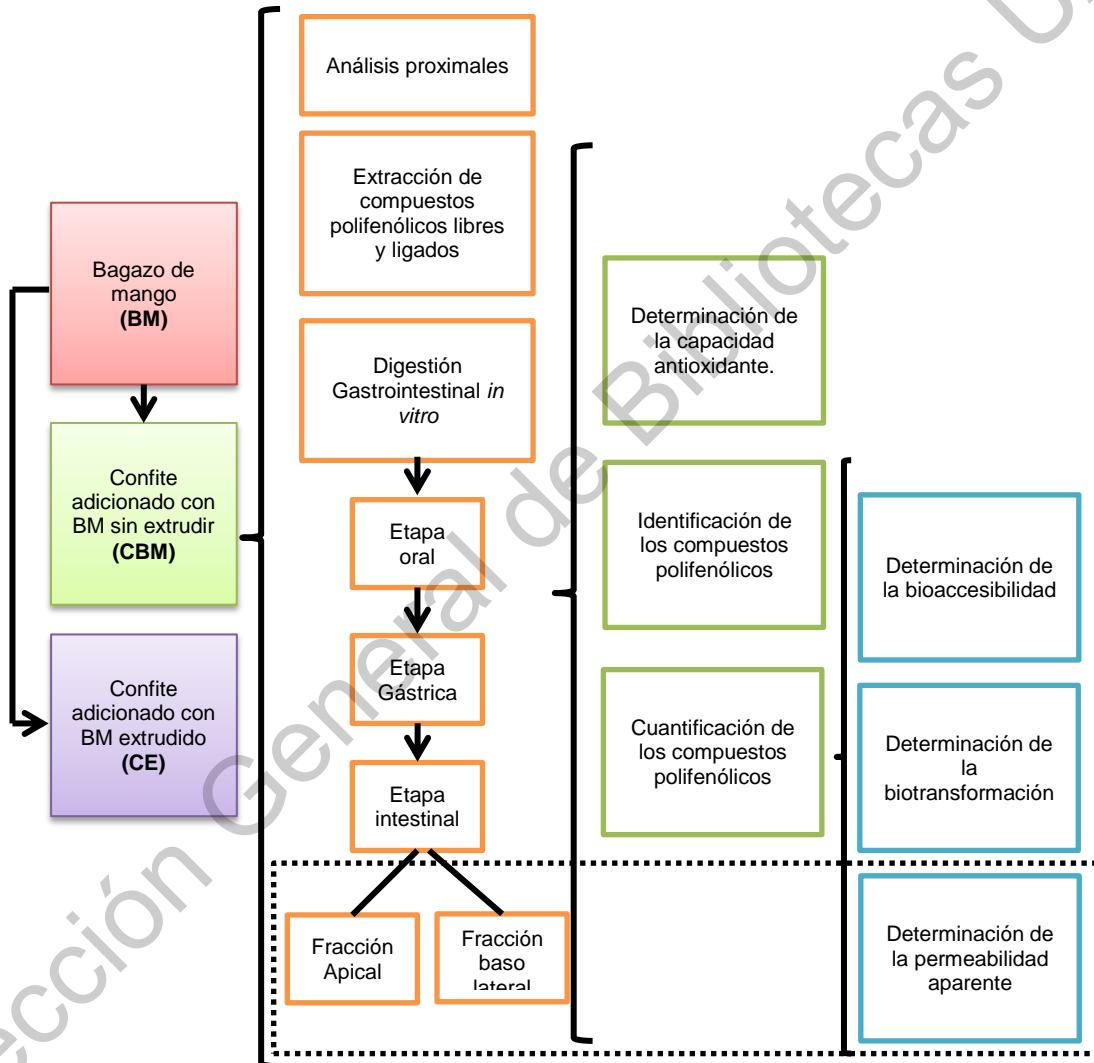


Figura 7. Estrategia experimental

6.2 Materiales

Los ingredientes para la formulación de los dulces fueron obtenidos de comercializadoras de materias primas locales ubicadas en la Central de abastos de Santiago de Querétaro, Querétaro.

Los reactivos y solventes fueron adquiridos de la marca J. T. Baker entre los que se encontraron el sulfato de sodio y calcio, hidróxido de sodio y potasio, fosfato de sodio y potasio, ácido clorhídrico, metanol, acetonitrilo grado HPLC, y ácido fórmico grado HPLC. Los radicales (ABTS y DPPH), el Trolox, los estándares: mangiferina, quercetina y ácido gallico; las enzimas: α -amilasa, proteasa y amiloglucosidasa; fueron de la marca Sigma Chemical Co., (USA).

6.3 Elaboración del confite

El procesamiento del bagazo y del confite se llevó a cabo en las instalaciones del Programa de Posgrado en Alimentos del centro de la República (PROPAC), Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Querétaro (UAQ), en donde se tiene montada una pequeña planta piloto. La preparación se llevó a cabo bajo los lineamientos que marcan las buenas prácticas de manufactura (NOM-120-SSA-1994) y en conformidad con la NOM-187-SSA1/SCFI-2002. Se realizaron análisis microbiológicos para asegurar la inocuidad del producto.

Se elaboraron dos confites de acuerdo a lo descrito por Hernández-Navarro, (2015). Con algunas modificaciones, un confite adicionado con bagazo de mango y extrudido (CE) y un confite adicionado con bagazo de mango no extrudido (CBM) con la finalidad de observar el efecto del proceso de extrusión en las variables respuesta.

6.3.1 Obtención del bagazo de mango

El bagazo de mango (BM) fue proporcionado por la empresa Frozen Pulps de México S.A. de C.V. Se congeló a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$, se liofilizó durante 24 h y se redujo a

un tamaño de partícula de 250 micras. Se almacenó al vacío a -70 °C para su uso posterior.

6.3.2 Elaboración del confite adicionado con bagazo de mango extrudido y el confite adicionado con bagazo de mango no extrudido

Previamente a la elaboración de los confites, almidón gelatinizado fue preparado de la siguiente manera: Una mezcla al 70% de Maizena® y agua a temperatura ambiente fue preparada, esta se gelatinizó a 90 °C a baño maría. Se extendió en charolas para secar a 37 °C durante 12 h, posteriormente se molió en un procesador Nutribullet® y se tamizó a un tamaño de partícula de 250 micras.

Para la elaboración de los dulces, se colocó grenetina y pectina previamente hidratadas a fuego lento hasta su punto de ebullición. Posteriormente, se adicionó el edulcorante y en orden estricto almidón gelatinizado, ácido cítrico, sal y bagazo de mango (BM). Todos los ingredientes se mezclaron hasta obtener una pasta homogénea, al final para humectar, se añadió glicerol.

Posteriormente, para la elaboración del confite adicionado con bagazo de mango y extrudido (CE), se usó un extrusor de tornillo simple de una pulgada de diámetro: una relación de tornillo de $L/D=19$ y la matriz utilizada fue un dado de 6 mm de diámetro. El proceso de extrusión se llevó a cabo a una temperatura de 72 °C en ambas zonas de calentamiento y a una velocidad de tornillo de 15 rpm.

Se obtuvieron tiras de 15 cm y se colocaron en un secador Excalibur a 30 °C por un tiempo de 12 h. Posteriormente se espolvorearon con chile en polvo de la marca Tajin®.

Para la elaboración del confite adicionado con bagazo de mango sin extrudir (CBM), se realizó todo el proceso anteriormente descrito, pero la etapa de extrusión fue excluida, de tal manera que la pasta fue colocada en una duya de 6 mm de diámetro, con la finalidad de formar tiras de 15 cm. Posteriormente colocarlas en el secador con las mismas condiciones descritas con anterioridad y siendo también espolvoreadas con chile en polvo de la misma marca.

6.4 Análisis proximal

El análisis proximal se realizó en el BM, el CBM y el CE por triplicado de acuerdo a lo descrito por la AOAC. Se determinó la humedad (método 325.23), en contenido de proteínas (método 920.15), lípidos (método 920.39) y cenizas (método 942.05). Una vez determinado el porcentaje de proteína, humedad, grasa y cenizas estos se sumaron y se restó a un 100%. La diferencia obtenida corresponde a los carbohidratos. La determinación de la fibra dietaria soluble e insoluble se realizó de acuerdo a la método 991.42 y el método 9931.19 respectivamente.

6.5 Digestión gastrointestinal *in vitro*

En este análisis se incluyó la participación de individuos sanos para la primera etapa de la digestión, por lo cual, se cumplió con el código de bioética de acuerdo a lo establecido en la declaración de Helsinki. Se utilizaron también fragmentos de intestino de ratas por lo que el protocolo se remitió a previo análisis y aprobación por el Comité de Bioética de la Universidad Autónoma de Querétaro (CBQ18/062). Se tomaron en cuenta las disposiciones para el tratamiento de los animales de acuerdo a las pautas del Consejo de Organizaciones Internacionales de Ciencias Médicas (CIOMS, por sus siglas en inglés), en donde se establece que el correcto uso de los animales deben conformarse de acuerdo a investigaciones médicas en seres humanos, buscando medidas que eviten o minimicen riesgos y supervisen la seguridad. Asimismo, se consideró que la evaluación científica está vinculada a la ética, siendo esta última esencial en la consideración de los aspectos científicos de una propuesta y para determinar su validez (CIOMS, 2002).

El BM, el CBM y el CE se sometieron a una digestión gastrointestinal *in vitro* de acuerdo a lo descrito por Campos-Vega et al., (2015).

6.5.1 Simulación de condiciones de boca (etapa oral)

Se reclutaron voluntarios sanos, a quienes se les explicó detalladamente el procedimiento a seguir. Una vez entendido con claridad el procedimiento se pidió que firmaran un consentimiento informado (

Dirección General de Bibliotecas UAQ

ANEXO I).

Los voluntarios consumieron su último alimento 90 min previos al inicio del ensayo. Posteriormente, se les pidió masticar un gramo de muestra 15 veces por 15 s, el contenido lo descartaron en un vaso que contenía 5 mL de agua destilada. Después, enjuagaron su boca por 60 s con 5 mL de agua potable y nuevamente se depositó el líquido en el vaso anterior. De la misma manera se preparó un blanco sustituyendo la muestra por agua destilada.

6.5.2 Simulación de condiciones de estómago (etapa gástrica)

Para simular fluidos gástricos, 0.055g de pepsina se disolvieron en 0.94mL de HCl 20 mM, a esta mezcla se le añadió 9mL de la suspensión obtenida en la simulación de condiciones de boca, se incubaron con agitación durante 2 h a 37°C.

6.5.3 Simulación de condiciones de intestino delgado (etapa intestinal)

Previamente se realizó la preparación de las siguientes soluciones:

La solución tampón de Krebs-Ringer contenía 118 mM NaCl, 4.7 mM KCl, 1.2 mM de MgSO₄, 1.2 KH₂PO₄, 25 mM NaHCO₃, 11 mM glucosa y 2.5 mM CaCl₂, pH 6.8.

Para preparar el extracto intestinal sintético se disolvieron 3 mg de hiel de buey y 2.6 mg de pancreatina en 5 mL de solución tampón Krebs-Ringer.

Se emplearon ratas de la cepa Winstar con un peso entre 250 a 300 g clínicamente sanas, se alojaron 2 ratas por jaula las cuales eran de acero inoxidable, tenían un clip a prueba de escape y permitían la entrada de aire y luz. Las ratas se mantuvieron en condiciones aceptables de limpieza y ventilación constante (NOM-062-ZOO-1999), se alimentaron con alimento comercial y agua potable. Los animales se mantuvieron en ayuno 16h antes del sacrificio dejando solo agua.

6.5.3.1 Sacrificio de animales

Para el sacrificio, las ratas se anestesiaron con pentobarbital 60mg/kg. Posteriormente, se expuso el intestino con una incisión abdominal en la línea media, un segmento de 20 a 25 cm del yeyuno proximal de cada rata fue escindido y se colocó en una solución Krebs- Ringer gasificado con CO₂ a 37°C.

6.5.3.2 Técnica del saco intestinal invertido utilizando ratas

El segmento del intestino ya removido se lavó con la solución tampón Krebs-Ringer para eliminar residuos. Posteriormente se volteó con una varilla de vidrio, se cortó en segmentos 6 cm de longitud aproximadamente y se ligaron en un extremo, todo el procedimiento previo se hizo manteniendo sumergido el intestino en solución tampón Krebs-Ringer para evitar la pérdida de viabilidad del tejido. El intestino fue llenado con 2 mL de solución tampón y se ligó al otro extremo para crear un saco, este fue incubado en un baño conteniendo 15 mL de la suspensión obtenida en la simulación de condiciones de estómago a 37°C. La incubación fue en agitación constante (80 ciclos por minuto).

La solución que estaba dentro del saco, denominada fracción absorbible, se encontraba del lado basolateral (BL); la que estaba fuera, denominada fracción bioaccesible, se encontraba del lado apical (AP); de estas se tomaron muestras a los 15, 30, 60 y 120 min de incubación y se almacenaron a 4°C para su posterior análisis.

6.5.3.3 Determinación del coeficiente de permeabilidad

El coeficiente de permeabilidad aparente (Papp por sus siglas en inglés) se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$P_{app} = [V/(A \cdot T)] \cdot (C_{60}/C_0)$$

Dónde V es el volumen contenido en el lado basolateral (BL), A es la superficie disponible permeable ($2\pi rh$), r es el radio del segmento intestinal (0.4cm) y h es la longitud del segmento intestinal disponible para la permeación (4cm). T es el tiempo de incubación, C₀ es la concentración inicial en el lado apical

(AP), mientras que C_{60} es la concentración en el lado basolateral (BL) a diferentes tiempos de digestión (15, 30, 60, 120 min).

El coeficiente de permeabilidad neta (Papp neta por sus siglas en inglés) se calculará utilizando la siguiente ecuación:

$$\text{Papp neta} = \text{Papp}(\text{BL} \rightarrow \text{AP}) - \text{Papp}(\text{AP} \rightarrow \text{BL})$$

Donde Papp (BL→AP) es el coeficiente de permeabilidad aparente del lado basolateral hacia el lado apical, mientras que Papp(AP→BL) es el coeficiente de permeabilidad aparente del lado apical hacia basolateral.

La relación de flujo de salida (F) se calculó utilizando la siguiente ecuación:

$$F = \text{Papp}(\text{BL} \rightarrow \text{AP}) / \text{Papp}(\text{AP} \rightarrow \text{BL})$$

Donde Papp(BL→AP) es el coeficiente de permeabilidad aparente del lado basolateral hacia el lado apical, mientras que Papp(AP→BL) es el coeficiente de permeabilidad aparente del lado apical hacia basolateral.

La bioaccesibilidad a lo largo del tracto gastrointestinal y la absorción en el intestino delgado se calculó con la siguiente ecuación:

$$(C_i - C_T) * 100$$

Donde C_i es la concentración inicial de los compuestos y C_T es la concentración final obtenida a los diferentes tiempos de incubación.

6.6 Determinación y cuantificación de compuestos fenólicos

La capacidad antioxidante, determinación y cuantificación de los compuestos polifenólicos se llevó a cabo para el BM, CBM, CE, para las muestras obtenidas en cada etapa de digestión gastrointestinal *in vitro* (Oral, gástrica e intestinal). El estudio se realizó en el Centro de Biotecnología FEMSA ubicado en el Instituto Tecnológico y de Estudios superiores de Monterrey, sede Monterrey.

6.6.1 Extracción de compuestos fenólicos libres y ligados

Se determinaron los compuestos fenólicos libres y ligados para el BM, el CBM y el CE de acuerdo a lo reportado por Acosta-Estrada et al.,(2014) con algunas modificaciones.

Un gramo de muestra fue mezclado con 10 mL de etanol/agua (80:20 v/v) por 10 min en mezclador (Incubador orbital Shaker Mrc lab, Israel) a 250 rpm. Posteriormente, las muestras fueron centrifugadas a 3000 G por 10 min a 4°C, el sobrenadante fue recuperado, evaporado en un concentrador de tubos (Genevac) a 45 °C por 5 h hasta sequedad y posteriormente re suspendido con 1mL de metanol. Este extracto corresponde a la fracción de compuestos polifenolicos libres y se almacenó a -20 °C hasta su uso posterior.

Al pellet obtenido de la extracción anterior se le removió el O₂ utilizando N₂, se re suspendió en 10 mL de NaOH 2M y se hidrolizó por 60 min a 25°C en la incubadora mezcladora a 250 rpm. El hidrolizado fue acidificado hasta pH 2 con HCl, posteriormente se removieron los lípidos adicionando 10 mL de hexano. Posteriormente, las muestras se centrifugaron a 1677 x g durante 10 minutos a 4 °C para remover la fase superior (hexano). A continuación, se adicionaron 10 mL de acetato de etilo y se centrifugó a 1677 x g durante 10 min a 4 °C. El sobrenadante se recuperó y el solvente se evaporo en un concentrador de tubos (Genevac) a 45 °C por 5 H hasta sequedad. Finalmente, el residuo se re suspendió en un mL de metanol y se almacenó a -20 °C hasta su posterior análisis.

6.6.2 Identificación y cuantificación de compuestos polifenólicos mediante HPLC-DAD y LC/MS-TOF

La cuantificación e identificación de compuestos fenólicos se llevó a cabo de acuerdo a lo descrito por Pacheco-Ordaz et al., (2017) con algunas modificaciones.

La cuantificación de los compuestos fenólicos se realizó en un HPLC acoplado a un detector DAD-UV (Serie 1300, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, EE.UU). La separación se llevó a cabo utilizando una columna Zorbax SB-Aq C18 3.0 x 150 mm 3.2 miron a 40°C con una velocidad de flujo de 0.6 mL/min. La fase móvil utilizada fue (A) agua acidificada con ácido fórmico al 0.1% y (B) acetonitrilo acidificado con ácido fórmico al 0.1%. El gradiente de elución a utilizar comenzó con 5% de B y aumentando al 20% en los primeros 15 min, cambiando al 100% a los 24 min. Los cromatogramas se obtuvieron a 280, 320 y 365 nm después de la inyección de 5 µL de muestra e integrada por el software HP-Agilent (Chemstation para LC-Copyright).

La identificación se realizó mediante cromatografía líquido acoplada a espectrometría de masas de tiempo de vuelo (LC/MS-TOF) (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, EE.UU.) y equipado con un sistema de bomba cuaternaria con un desgasificador al vacío, una columna con control de temperatura y un compartimiento de fuente de ionización por electro pulverización (ESI) utilizando las mismas condiciones descritas anteriormente. Para la separación, la ionización se llevó a cabo utilizando gas nitrogeno (350 °C) a 10 L/min, los espectros de masas se obtuvieron en modo negativo en un rango de 150 a 1500 m/z, utilizando un coltaje de frgmentacion de 50 V, una temperatura de gas de 300 °C, nebulización de 40 psi y voltaje del capilar de 4000 V. La identificación de compuestos se realizó con la masa exacta de los iones identificados y se comparó contra la base de datos del Diccionario del Productos Naturales (DNP, por sus siglas en inglés) (<http://dnp.chemnerbase.com>)

6.7 Determinación de la capacidad antioxidante por el método DPPH y ABTS

La determinación de la capacidad antioxidante se realizó usando el radical DPPH se llevó a cabo de acuerdo a lo reportado por Fukumoto & Mazza, (2000). Se añadieron 20 µL de muestra y 200 µL de DPPH en los pozos de la micro placa.

La lectura se realizó cada 10 min durante 90 min una longitud de onda de 540 nm en un espectrofotómetro.

Por otra parte, la determinación de la actividad antioxidante por el método ABTS se realizó mediante la técnica descrita por Enadis, Ang, Simidou, & Hang, (2004). Se preparó una solución acuosa de 7mM de ABTS y 140 mM de K₂S₂O₈. Se mezclaron 5mL de la solución ABTS y 88 µL de la solución de persulfato de potasio. Se cuidó de no exponer a la luz durante 12 horas, esperando la generación del radical. Posteriormente, se realizó una dilución, mezclando 500 µL de la solución y de 20 a 25 mL de etanol, de esta solución se colocaron 230µL y 20µL de muestra en los pozos de la micro placa. La lectura se realizó a una longitud de onda de 734nm.

Para ambas técnicas los resultados se reportaron como µmol equivalentes de Trolox (TEAC) en µmol equivalentes de Trolox/ g de muestra calculado mediante una curva de calibración.

6.8 Diseño experimental y análisis estadístico

Se llevó a cabo un diseño experimental completamente aleatorio. Los datos obtenidos a partir de los resultados se expresaron como la media ± el error estándar. Los datos se analizaron a través de un análisis de varianza (ANOVA) seguido de una prueba de comparación de medias Tukey utilizando el programa estadístico JMP pro 14.

VII RESULTADOS Y DISCUSIONES

7.1 Composición proximal

En el **Cuadro 6** se reportan los resultados del análisis proximal (perfil químico) de las muestras evaluadas.

Cuadro 6. Análisis proximal del bagazo de mango, del confite adicionado con bagazo de mango y del confite adicionado con bagazo de mango y extrudido.

	BM	CBM	CE
Humedad	12.2 ± 0.6 ^a	4.0 ± 0.1 ^c	7.2 ± 0.1 ^b
Carbohidratos	91.5 ^a	82.4 ^a	83.7 ^a
Fibra dietética total	47.1 ± 0.9 ^a	17.5 ± 0.6 ^b	17.8 ± 0.5 ^b
Fibra dietética soluble	19.7 ± 0.8 ^a	4.0 ± 0.4 ^b	2.7 ± 0.1 ^b
Fibra dietética insoluble	27.4 ± 0.8 ^a	13.5 ± 0.4 ^b	15.1 ± 0.1 ^b
Proteína	4.5 ± 0.3 ^b	7.3 ± 0.1 ^a	7.5 ± 0.2 ^a
Lípidos	1.3 ± 0.1 ^a	1.0 ± 0.1 ^b	0.9 ± 0.1 ^b
Cenizas (minerales)	2.7 ± 0.2 ^b	9.3 ± 0.8 ^a	7.9 ± 1.2 ^a

Los resultados son expresados en g/100g de muestra en base seca. Cada valor representa la media de tres experimentos independientes ± el error estándar. Letras diferentes por fila indican diferencias estadísticas entre muestras ($p < 0.05$). BM, bagazo de mango; CBM, confite adicionado con bagazo de mango; CE, confite adicionado con bagazo de mango y extrudido.

En el caso del BM el compuesto mayoritario fueron carbohidratos, de los cuales 47.14 g/100g (muestra en base seca) son fibra dietética total. Estos resultados son muy similares a lo reportado en la bibliografía (Cruz-Trinidad, Sanchez-Burgos, Ságayo-Ayerdi, & Zamora-Gasga, 2019; Herrera-Cazares et al., 2019; Blancas-Benitez et al., 2015) donde se ha encontrado que los carbohidratos son el nutriente predominante en este subproducto, el cual es rico en fibra dietética. En la pulpa de mango, el azúcar mayoritario es la fructosa, al ser el bagazo proveniente del refinado de esta, podemos sugerir que es uno de los carbohidratos simples presentes en este subproducto (Wall-Medrano et al., 2015). El contenido de proteína, lípidos y cenizas fue menor al 5%, valores mínimos dado que el bagazo de mango está compuesto en su mayoría por fibra. Estos datos concuerdan con lo reportado por Herrera-Cázares et al., (2017) para el BM obtenido de mango Ataulfo.

El mismo perfil de macronutrientes se observó para el CBM y CE, siendo los carbohidratos los compuestos mayoritarios. El contenido de fibra dietética fue 17.49 ± 0.57 g/100g para el CBM y 17.80 ± 0.16 g/100g para el CE, los cuales no tuvieron diferencias estadísticas entre sí. En ambas muestras, se observó una disminución en el contenido de fibra soluble, debido a un efecto de dilución con los otros ingredientes utilizados para la elaboración del confite. Aunque el contenido de fibra dietética total fue menor, se observó que el proceso de extrusión no afectó la concentración de fibra soluble e insoluble en el confite cuya ratio fibra soluble:fibra insoluble fue 1:3.4 para el CBM y 1:5.5 para CE.

Se ha reportado que el método enzimático de la AOAC, utilizado en esta investigación, no es sensible a detectar un cambio en la proporción de fibra dietética soluble/insoluble producido por el proceso de extrusión (Singh et al., 2007), lo cual podría explicar el menor contenido de fibra soluble. De acuerdo a la FDA, el confite puede clasificarse como un alimento alto en fibra, ya que excede el 10% requerido para poder declararse como tal (FDA, 2013).

Además, el contenido de fibra dietética total del confite es cercano a la ingesta diaria recomendada para niños en edad escolar, por lo que este producto

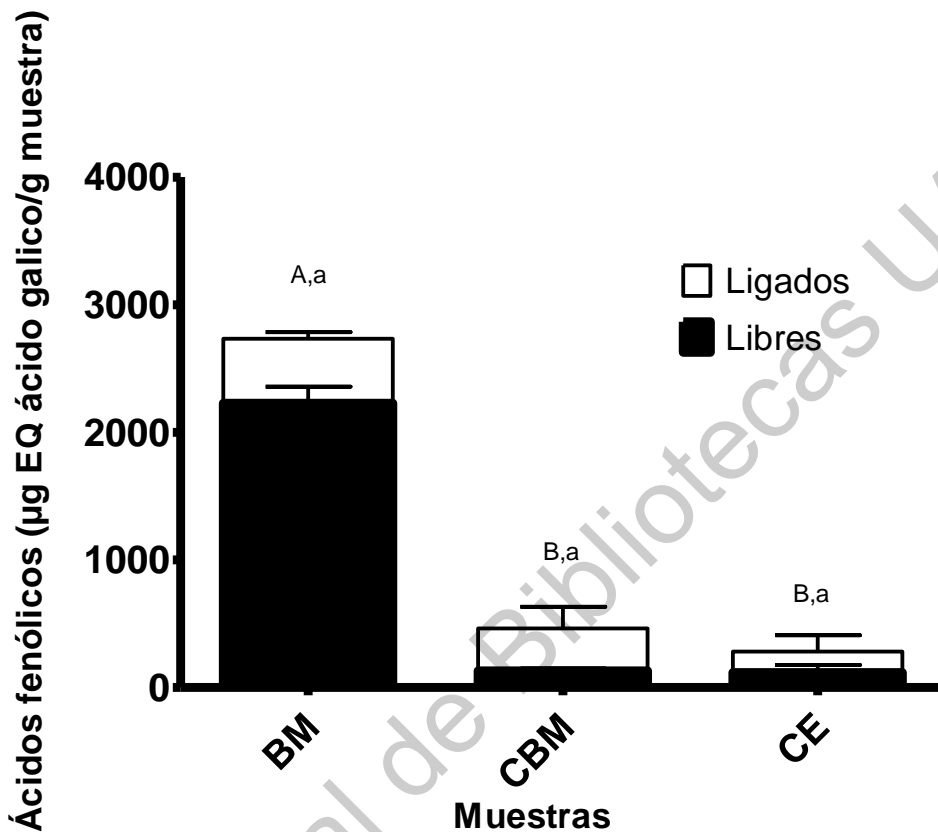
puede contribuir a incrementar la ingesta de fibra en la población infantil como parte de la prevención de ciertas enfermedades no transmisibles.

El contenido de proteínas para para CBM y CE no tuvo diferencias estadísticas entre sí, pero fue mayor al observado en el BM. Es importante destacar que la diferencia observada en el contenido de proteína entre el BM y los confites era de esperarse ya que una parte fundamental de la formulación es la grenetina, la cual se usa como vehículo de los compuestos de interés (Bejrapha, Surassmo, Choi, Nakagawa, & Min, 2011). Esta adición de material proteico, no solo incrementa el valor nutricional del producto, también actúa como vehículo para la liberación controlada de los compuestos bioactivos del BM, tal como se demostró por Herrera-Cázares et al., (2017), incrementando su bioaccesibilidad.

En términos generales, se pudo observar que el proceso de extrusión utilizado no afectó el contenido de nutrientes esenciales entre los confites ni el contenido de fibra dietética.

7.2 Contenido de polifenoles libres y ligados y capacidad antioxidante.

En las **Figura 8** **Figura 9** **Figura 10** se presentan los contenidos de compuestos polifenólicos libres y ligados del BM, el CBM y el CE. Se agruparon en tres grupos: ácidos fenólicos (μg equivalentes de ácido gálico/g de muestra); xantonas, (μg equivalentes de manguiferina /g de muestra); y flavonoides, (μg equivalentes de quercetina /g de muestra).



Cada valor representa el promedio de tres experimentos independientes \pm el error estándar. Letras mayúsculas indican diferencias estadísticas en los valores de compuestos libres y letras minúsculas indican diferencias estadísticas en los valores de compuestos ligados ($p < 0.05$). EQ, equivalentes; BM, bagazo de mango; CBM, confite adicionado con bagazo de mango; CE, confite adicionado con bagazo de mango y extrudido.

Figura 8. Contenido de ácidos fenólicos libres y ligados.

En la **Figura 8** se observa el contenido de ácidos fenólicos libres y ligados para cada muestra. Se observó que el BM es la muestra con mayor contenido de estos compuestos, seguido del CBM y siendo el menor el CE de los tres. Esta tendencia era de esperarse ya que los confites son adicionados con BM en casi un 56%. Cabe mencionar que en un estudio preliminar, se trataron de cuantificar compuestos polifenólicos procedentes de cualquier otro ingrediente de la formulación, como el chile en polvo utilizado, sin embargo no se lograron

cuantificar ningún tipo de estos compuestos (resultados no reportados) siendo así el BM es la única fuente de compuestos polifenólicos en los confites.

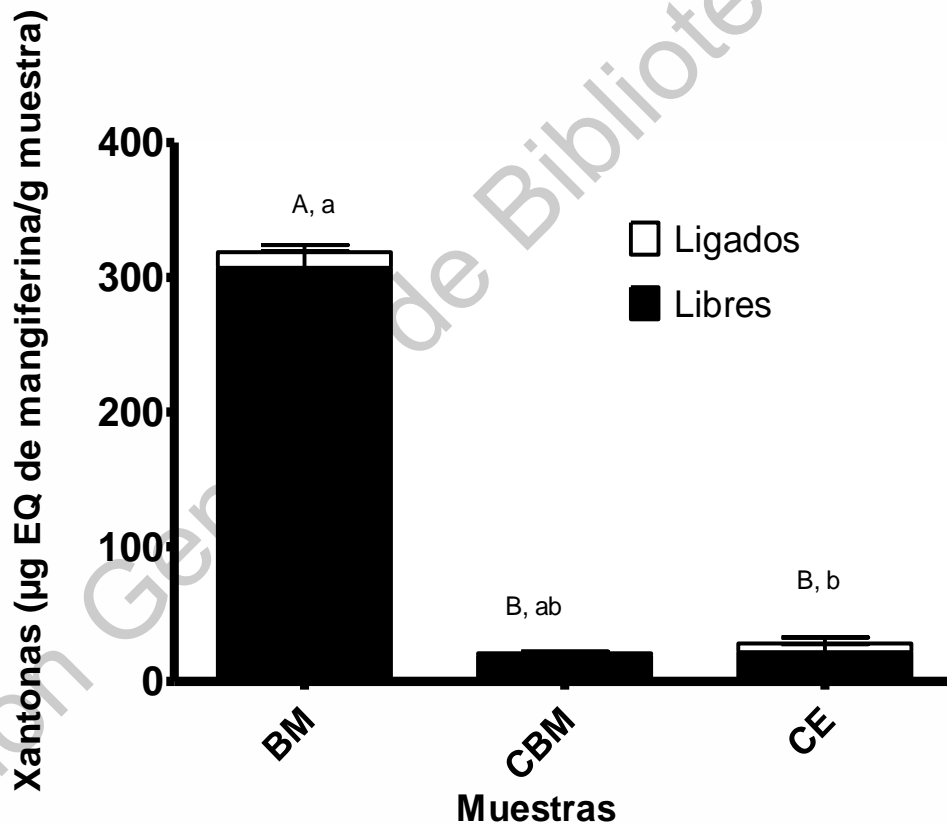
El contenido total de los ácidos fenólicos resulta de la suma de los compuestos ligados y libres, siendo para el BM de 2733.3 μg equivalentes de ácido gálico/g de muestra; 463.2 μg equivalentes de ácido gálico/g de muestra para el CBM y 281.9 μg equivalentes de ácido gálico/g de muestra para el CE.

Se presentó una reducción de casi el 50% del contenido en CE respecto a CBM de estos compuestos. Esta tendencia ya ha sido observada para otros alimentos sometidos a un proceso de extrusión, por ejemplo, Altan, McCarthy, & Maskan, (2009) observaron una reducción del 46% al 60% de los compuestos fenólicos ligados en cebada respecto a la misma muestra antes de ser extrudida; Konrade & Klava, (2017) observaron una reducción alrededor del 50% del contenido total de compuestos fenólicos al elaborar un pan utilizando extrusión y adicionado con cascara de zanahoria en un 5%. La reducción se puede deber al efecto de la temperatura y el trabajo mecánico que se produce durante el procesamiento por extrusión.

La concentración de ácidos fenólicos libres (2228.59 ± 79.92 μg equivalentes de ácido gálico/g de muestra) del BM fueron más altos respecto a los ligados (504.02 ± 30.03 μg equivalentes de ácido gálico/g de muestra), estos valores son mayores a lo reportado por Herrera-Cazares, et al., (2017) (480.5 ± 66.6 μg de ácido gálico/g de muestra). Esto puede ser debido a que, en esta ocasión, el BM se sometió a un proceso de liofilización donde los compuestos fenólicos no sufrieron un daño por efecto de la temperatura. Esta aseveración puede ser reforzada debido a que los valores obtenidos son similares a lo reportado por Zavala (2018) (5503 ± 2.3 μg de ácido gálico/g de muestra) quien utilizó un BM sometido a liofilización.

Respecto a los confites se observó que el contenido de ácidos fenólicos libres (130.19 ± 11.07 μg equivalentes de ácido gálico/g de muestra; para el CBM y 117.19 ± 35.00 μg equivalentes de ácido gálico/g de muestra; para el CE); y el de ligados (333.02 ± 98.33 μg equivalentes de ácido gálico/g de muestra para el

CBM y $164.73 \pm 73.46 \mu\text{g}$ equivalentes de ácido gálico/g de muestra para el CE) es muy similar entre ambos. Sin embargo, cabe destacar que aquellos compuestos que están ligados representan el 58.43% del contenido total en el caso del CE, mientras que para el CBM representan un porcentaje del 71.98%. Esta disminución del porcentaje de compuestos ligados en el confite extrudido puede deberse a que los compuestos contenidos en las paredes celulares del BM están siendo liberados por el trabajo mecánico característico del proceso de extrusión (Shahidi & Yeo, 2016).



Cada valor representa el promedio de tres experimentos independientes \pm el error estándar. Letras mayúsculas indican diferencias estadísticas en los valores de compuestos libres y letras minúsculas indican diferencias estadísticas en los valores de compuestos ligados ($p < 0.05$). EQ, equivalentes; BM, bagazo de mango; CBM, confite adicionado con bagazo de mango; CE, confite adicionado con bagazo de mango y extrudido.

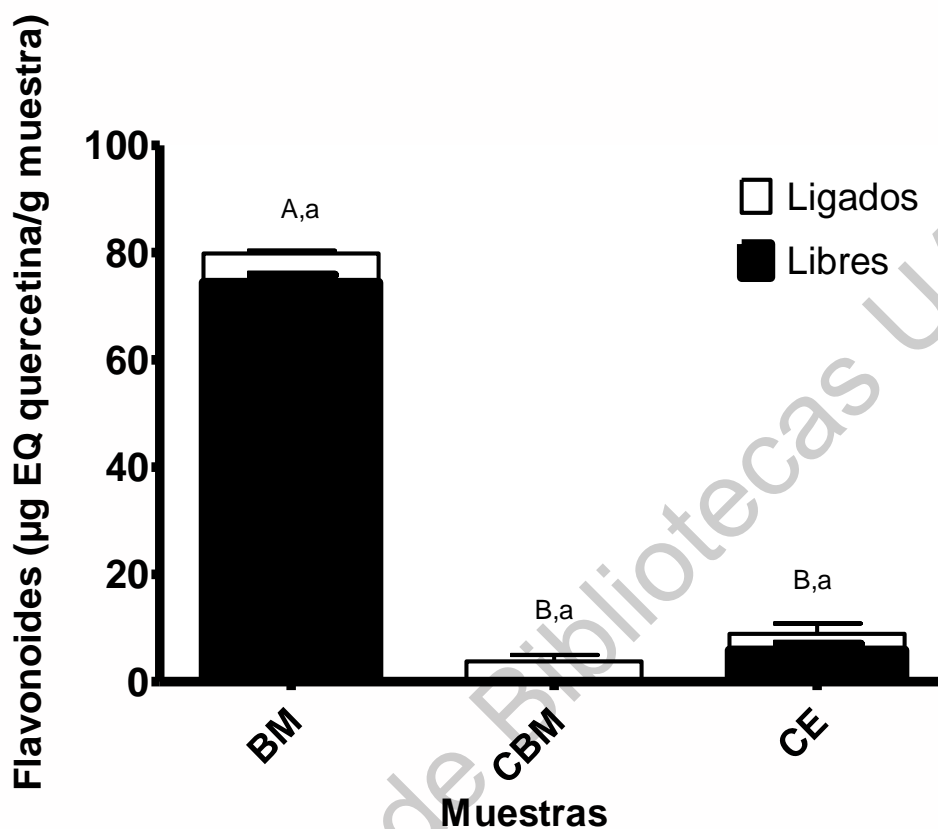
Figura 9. Contenido de xantonas libres y ligadas

En la **Figura 9** se muestra el contenido de xantonas libres y ligadas para cada muestra. Se observó una tendencia similar a los ácidos fenólicos, siendo el BM la muestra con mayor contenido de xantonas totales (318.1 μg equivalentes de mangiferina /g de muestra) respecto a los confites (20.4 μg equivalentes de mangiferina /g de muestra para el CBM y 28.1 μg equivalentes de mangiferina /g de muestra para el CE).

Cabe destacar que el contenido total de xantonas que presentan los confites, son muy similares, sugiriendo que el proceso de extrusión no tiene efecto significativo en este contenido. Beelders, Beer, Ferreira, Kidd, & Joubert, (2017) estudiaron la estabilidad de xantonas provenientes de *Cyclopia genistoides*, debido a que esta flor es consumida regularmente como infusión. En este estudio se encontró que la mangiferina y la isomangiferina fueron estables a temperaturas de hasta 130 °C. Los autores atribuyeron su estabilidad a la complejidad de su estructura química y a la protección de la matriz alimentaria.

En las tres muestras se puede observar que la cantidad de xantonas libres (307.4 ± 7.2 , 19.1 ± 1.7 y 21.7 ± 3.5 μg equivalentes de mangiferina /g de muestra en BM, CBM y CE respectivamente) es mayor que la cantidad de ligadas (11.7 ± 3.01 , 1.4 ± 0.7 y 6.4 ± 2.7 μg equivalentes de mangiferina /g de muestra en BM, CBM y CE respectivamente).

Es importante mencionar que el porcentaje de xantonas ligadas del CBM es de un 8.8% mientras que para el CE es de un 22.7%. Este aumento en el porcentaje de compuestos ligados, pudiera deberse a que la extrusión está ayudando a integrar los compuestos, que estaban libres antes de este proceso, a la matriz alimentaria (Alam et al., 2015).



Cada valor representa el promedio de tres experimentos independientes \pm el error estándar. Letras mayúsculas indican diferencias estadísticas en los valores de compuestos libres y letras minúsculas indican diferencias estadísticas en los valores de compuestos ligados ($p < 0.05$). EQ, equivalentes; BM, bagazo de mango; CBM, confite adicionado con bagazo de mango; CE, confite adicionado con bagazo de mango y extrudido.

Figura 10. Contenido de flavonoides libres y ligados.

En la **Figura 10** se muestra el contenido de flavonoides libres y ligados para cada muestra. Tendencia similar a la de las xantonas puede ser observada en el BM (74.4 ± 0.3 y 5.5 ± 0.3 μg equivalentes de quercetina /g de muestra, para flavonoides libres y ligados respectivamente) y el CE (5.9 ± 0.8 y 3.1 ± 1.4 μg equivalentes de quercetina /g de muestra, para flavonoides libres y ligados respectivamente), siendo el contenido de flavonoides libres mayor que el de ligados. En el caso del CBM, el contenido de flavonoides libres estaba por debajo del límite de cuantificación.

Nuevamente, se observó que la proporción de compuestos libres/ligados es modificado al someter el confite a extrusión, ya que en el CE logramos cuantificar flavonoides libres, sugiriendo esto que los flavonoides pueden estar siendo liberados de la matriz por ser sometidos a dicho proceso (Shahidi & Yeo, 2016). Ajila & Prasada Rao, (2013) observaron que flavonoides como la quercetina y el kampferol estaban asociados a la fibra dietaria proveniente de la cascara de mango.

Cuadro 7. Capacidad antioxidante de los compuestos polifenólicos libres y ligados.

Método	BM	CBM	CE
Compuestos libres			
DPPH	57127.27 ± 6599.80 ^a	1380.11 ± 11.70 ^b	1385.19 ± 15.20 ^b
ABTS	21292.86 ± 569.92 ^a	943.43 ± 4.07 ^b	952.51 ± 3.45 ^b
Compuestos ligados			
DPPH	42560.85 ± 1004.33 ^a	1493.97 ± 29.99 ^a	1300.11 ± 97.85 ^b
ABTS	11764.03 ± 745.65 ^a	420.32 ± 6.76 ^b	387.14 ± 18.09 ^b

Los resultados se presentan como $\mu\text{mol eq. de trolox/g}$ de muestra. Cada valor representa la media de tres experimentos independientes \pm el error estándar. Letras minúsculas indican diferencias estadísticas entre filas. BM, bagazo de mango; CBM, confite adicionado con bagazo de mango; CE, confite adicionado con bagazo de mango y extrudido.

En el **Cuadro 7** se presenta la capacidad antioxidante determinada por los métodos de DPPH y ABTS de los compuestos polifenólicos libres y ligados. Se observó que el BM es la muestra con mayor capacidad antioxidante por ambos métodos. Estos fueron mayores incluso, a lo reportado en la bibliografía (Cruz-Trinidad et al., 2019; Herrera-Cazares et al., 2017). Estas diferencias se atribuyen al tratamiento de liofilización al que se sometió el BM. Por otra parte, los confites no presentaron diferencias significativas entre ellos, estos resultados concuerdan con el contenido encontrado de compuestos polifenólicos en ambas fracciones. Otros productos han sido elaborados utilizando subproductos de mango y estos han presentado una capacidad antioxidante similar al nuestro, como lo fue el caso

de Hernandez-Maldonado et al., (2019) quienes elaboraron una barra de BM, cáscara de mango y avena.

7.3 Contenido de polifenoles y capacidad antioxidante durante digestión gastrointestinal *in vitro*.

El cálculo del porcentaje de bioaccesibilidad se realizó de acuerdo a lo reportado por Herrera-Cazares, et al., (2017) para cada etapa de la digestión gastrointestinal *in vitro*, oral, gástrica e intestinal; de la siguiente manera:

$$\% \text{bioaccesibilidad} = (C_{\text{etapa}} * 100) / C_i$$

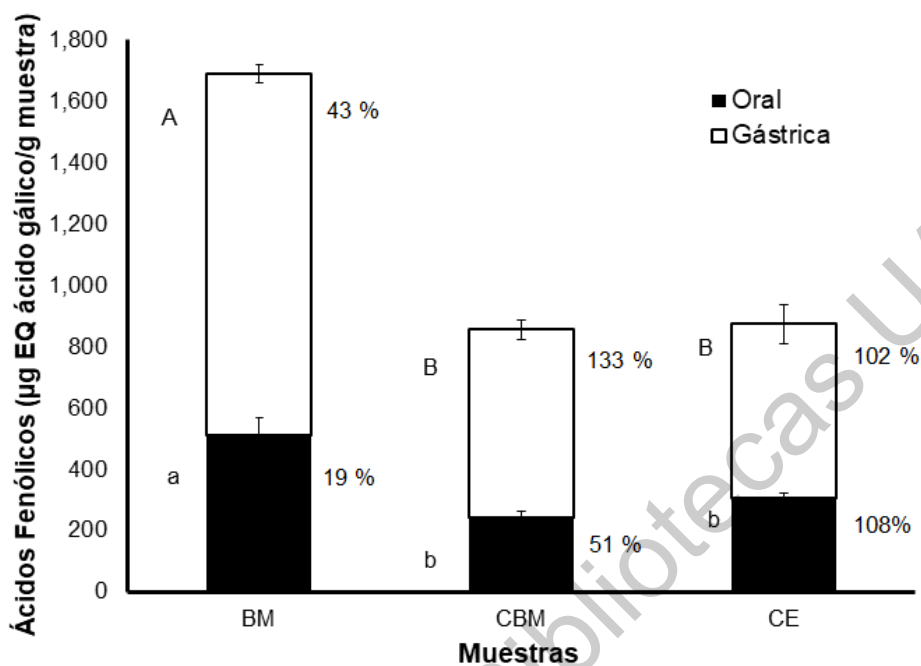
Dónde:

%bioaccesibilidad= porcentaje de los compuestos que se liberan en cada etapa respecto a la concentración inicial.

C_{etapa} = Es la concentración del compuesto en la etapa de la digestión gastrointestinal *in vitro* (oral, gástrica o intestinal). Esta fue cuantificada como μg eq. de ácido gálico, manguiferina o quercetina/ g de muestra.

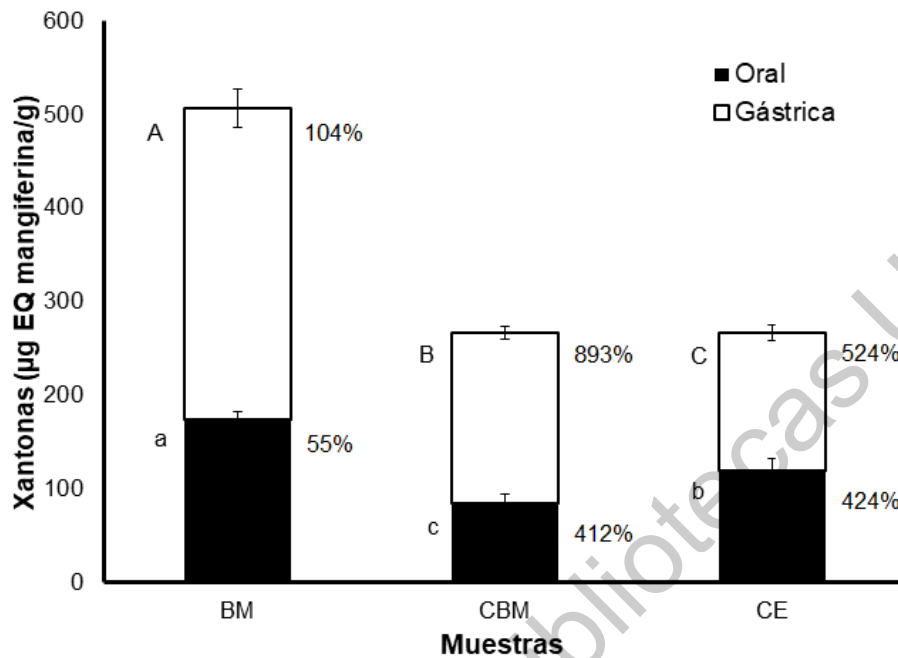
C_i = Es la concentración del compuesto encontrada en la fracción libre más la fracción ligada de la extracción de compuestos polifenólicos. Esta fue cuantificada como μg eq. de ácido gálico, manguiferina o quercetina/ g de muestra.

En las **Figura 11**, **Figura 12** y **Figura 13** se muestran los contenidos de ácidos fenólicos, xantonas y flavonoides respectivamente en la etapa oral y gástrica de la digestión gastrointestinal *in vitro*, así como los porcentajes de bioaccesibilidad de cada etapa.



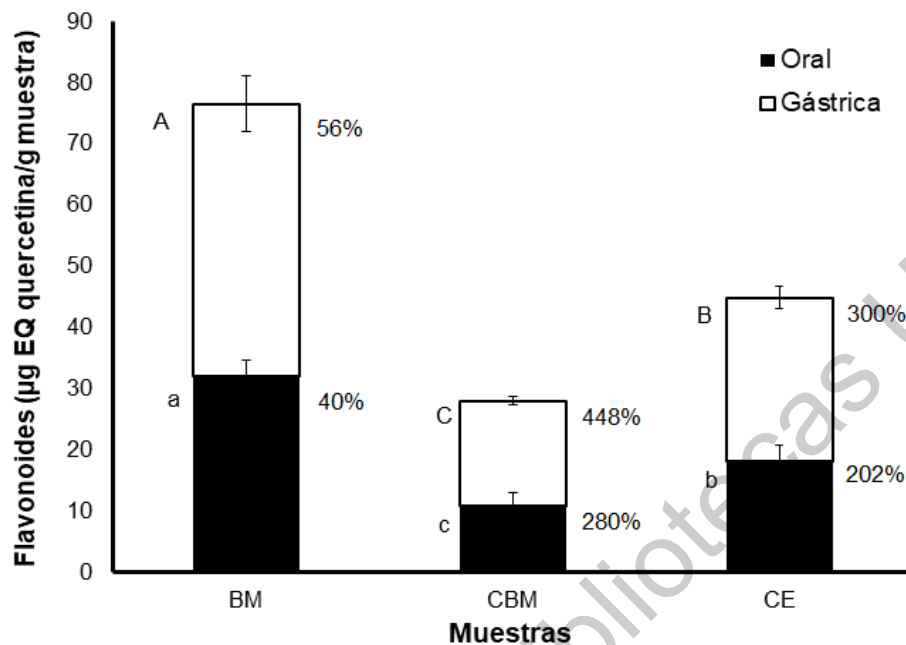
Cada valor representa el promedio de tres experimentos independientes \pm el error estándar ($p < 0.05$). Letras minúsculas indican diferencia estadística entre muestras en la etapa oral. Letras mayúsculas indican diferencias estadísticas entre muestras en la etapa gástrica. EQ, equivalentes; BM, bagazo de mango; CBM, confite adicionado con bagazo de mango; CE, confite adicionado con bagazo de mango y extrudido.

Figura 11. Contenido de ácidos fenólicos y porcentaje de bioaccesibilidad en la etapa oral y gástrica de la digestión gastrointestinal *in vitro*.



Cada valor representa el promedio de tres experimentos independientes \pm el error estándar ($p < 0.05$). Letras minúsculas indican diferencia estadística entre muestras en la etapa oral. Letras mayúsculas indican diferencias estadísticas entre muestras en la etapa gástrica. EQ, equivalentes; BM, bagazo de mango; CBM, confite adicionado con bagazo de mango; CE, confite adicionado con bagazo de mango y extrudido.

Figura 12. Contenido xantonas y porcentaje de bioaccesibilidad en la etapa oral y gástrica de la digestión gastrointestinal *in vitro*.



Cada valor representa el promedio de tres experimentos independientes \pm el error estándar ($p < 0.05$). Letras minúsculas indican diferencia estadística entre muestras en la etapa oral. Letras mayúsculas indican diferencias estadísticas entre muestras en la etapa gástrica. EQ, equivalentes; BM, bagazo de mango; CBM, confite adicionado con bagazo de mango; CE, confite adicionado con bagazo de mango y extrudido.

Figura 13. Contenido flavonoides y porcentaje de bioaccesibilidad en la etapa oral y gástrica de la digestión gastrointestinal *in vitro*.

En la etapa oral se presenta un rompimiento mecánico de la matriz alimentaria, un pH neutro y la acción de la α -amilasa (Burton-Freeman et al., 2017). Las xantonas son los compuestos que tienen un porcentaje de bioaccesibilidad mayor respecto a los flavonoides y los ácidos fenólicos, no significa que estos no se estén liberando en esta etapa, sino que su liberación es menor, mientras que las xantonas pudieran estar siendo liberadas de la matriz alimentaria por las características antes descritas.

La etapa gástrica presentó mayores porcentajes de bioaccesibilidad respecto a la etapa oral, esto puede ser debido a que en dicha etapa, que simula las condiciones del estómago, se cuenta con condiciones de un pH 2, una hidrólisis enzimática por activación de la pepsina y escisión de azúcares unidas a

los polifenoles (Velderrain-Rodríguez et al., 2014). Esto permite sugerir que la liberación de compuestos en esta etapa es debido a las características mencionadas anteriormente así como la liberación que se presentó en la etapa anterior. Nuevamente el grupo de las xantonas presentó mayor porcentaje de bioaccesibilidad respecto a los ácidos fenólicos y flavonoides.

El BM fue la muestra que presentó menores porcentajes de bioaccesibilidad en la etapa oral y gástrica para los tres grupos de compuestos. Este comportamiento sugiere que un cambio de matriz alimentaria está afectando la bioaccesibilidad de los compuestos. Mandalari et al., (2016) realizaron un estudio acerca de la influencia del cambio de matriz alimentaria en la bioaccesibilidad de los compuestos fenólicos provenientes de la cascara de almendra, ellos observaron que había un cambio importante en la bioaccesibilidad de estos compuestos, resaltaron que los compuestos polifenólicos pueden unirse a las proteínas en su procesamiento, y siendo liberados en la etapa gástrica, lo que pudiera estar pasando al adicionar el BM al CBM y/o CE.

En el caso de los confites, el CE presentó un mayor porcentaje de bioaccesibilidad en la etapa oral para los ácidos fenólicos y las xantonas (108 % y 424 % respectivamente) respecto a CBM (51% y 402 % respectivamente). Caso contrario se observa en la etapa gástrica. Estos resultados concuerdan con el contenido de compuestos libres y ligados para los confites, donde el CE presentó un menor contenido de compuestos ligados que CBM, debido a que el proceso de extrusión pudiera está liberando compuestos de la matriz del BM (T. Wang, He, & Chen, 2014) haciéndolos más bioaccesibles, sugiriendo así que los compuestos liberados en la etapa gástrica procedentes del CBM están unidos a la matriz alimentaria rica en proteína y carbohidratos.

En el **Cuadro 8** se presenta la capacidad antioxidante durante la digestión gastrointestinal *in vitro* en la etapa oral y gástrica, donde se observa que la etapa gástrica presentó mayor capacidad antioxidante respecto a la etapa oral, estos resultados concuerdan con la concentración con los datos de concentración de compuestos polifenólicos.

Cuadro 8. Capacidad antioxidante durante la digestión gastrointestinal *in vitro* en la etapa oral y gástrica

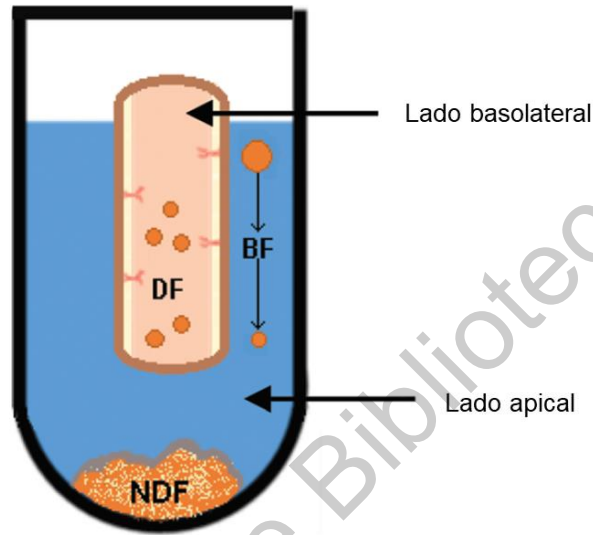
Muestra	Método	Oral	Gástrica
BM	DPPH	5713.90 ± 24.95 ^{a,A}	6040.90 ± 106.11 ^{a,A}
	ABTS	1173.81 ± 1.44 ^{a,A}	1272.51 ± 5.51 ^{a,A}
CBM	DPPH	3020.08 ± 240.39 ^{b,C}	5411.33 ± 207.57 ^{a,AB}
	ABTS	391.80 ± 12.73 ^{a,C}	1032.38 ± 49.43 ^{a,B}
CE	DPPH	4803.41 ± 143.48 ^{a,B}	4944.29 ± 489.17 ^{a,B}
	ABTS	1097.42 ± 23.67 ^{a,B}	1014.80 ± 51.12 ^{a,B}

Eq. de trolox/g de muestra. Cada valor representa la media de tres experimentos independientes ± el error estándar. Letras minúsculas indican diferencia estadística entre columnas. Letras mayúsculas indican diferencias estadísticas entre filas. BM, bagazo de mango; CBM, confite adicionado con bagazo de mango; CE, confite adicionado con bagazo de mango y extrudido

En el caso del BM y el CE, la diferencia estadística entre las etapas de la digestión no fue significativa, este mismo comportamiento es similar al contenido encontrado de flavonoides en dichas etapas, esto sugiere que la capacidad antioxidante podría estar relacionada con el contenido de flavonoides, los cuales se sabe que muestran una estabilidad a cambios de pH, como lo es el paso de la etapa oral a la etapa gástrica, esto debido a la estructura que presentan (Bravo, 1998).

En la etapa oral, el CBM fue la muestra con menor capacidad antioxidante, mientras que en la etapa gástrica fue el CE, estos resultados concuerdan con el porcentaje de bioaccesibilidad de los compuestos polifenólicos encontrado.

En la **Figura 14** se observa el modelo del saco intestinal invertido utilizado en este experimento con la finalidad de esquematizar las fracciones que se obtuvieron en este experimento.

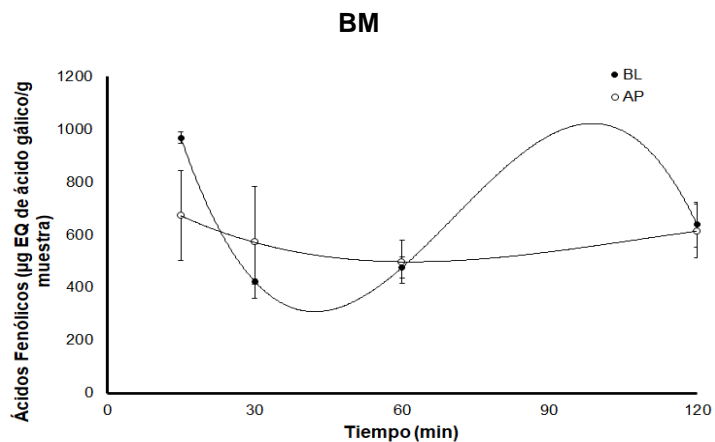


BF, Fracción bioaccesible; NDF, fracción no digerible; DF, fracción absorbible; todas las anteriores por sus siglas en inglés.

Figura 14. Modelo del saco intestinal invertido.

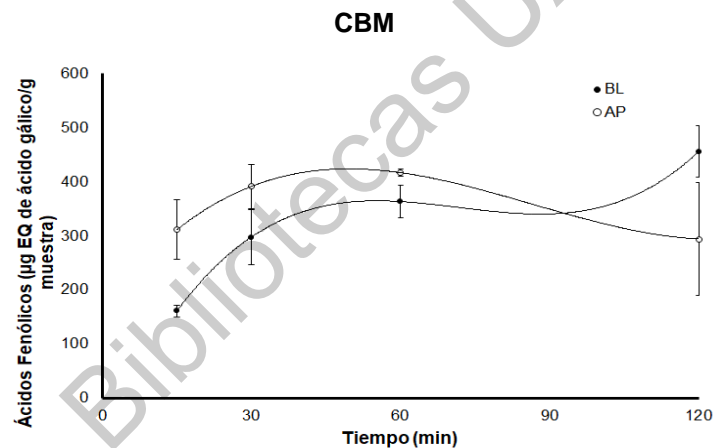
Fuente: Herrera-Cazares et al., (2017).

En la **Figura 15** se muestra el contenido de ácidos fenólicos en la etapa intestinal; del lado apical (fracción accesible) y del lado basolateral (fracción absorbida), durante la digestión gastrointestinal *in vitro*, así como el modelo matemático que mejor se ajusta ($R^2=1$ en todos los casos) a la cinética de liberación y absorción.



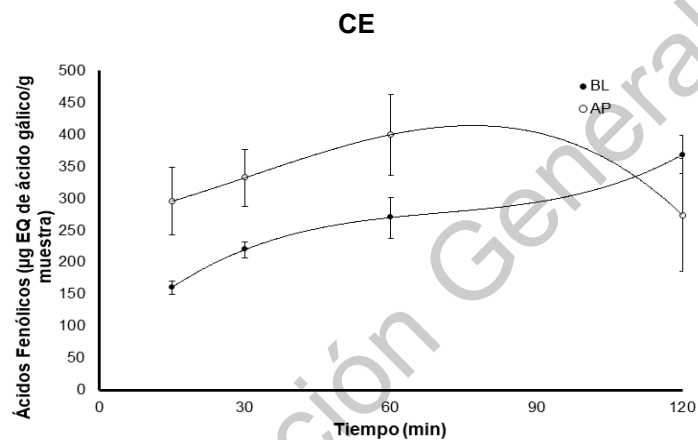
AP $y = -0.0004x^3 + 0.1407x^2 - 12.373x + 827.67$

BL $y = -0.008x^3 + 1.6808x^2 - 99.434x + 2108.9$



AP $y = 0.0006x^3 - 0.1684x^2 + 11.915x + 167.8$

BL $y = 0.0014x^3 - 0.3017x^2 + 20.504x - 83.969$



AP $y = -0.0004x^3 + 0.0403x^2 + 1.2879x + 268.72$

BL $y = 0.0005x^3 - 0.1x^2 + 7.6925x + 66.04$

Cada valor representa la media de tres experimentos independientes \pm el error estándar. AP, Lado apical; BL, Lado basolateral; EQ, equivalentes; BM, bagazo de mango; CBM, confite adicionado con bagazo de mango; CE, confite adicionado con bagazo de mango y extrudido.

Figura 15. Contenido ácidos fenólicos en la etapa intestinal de la digestión gastrointestinal *in vitro*.

Observando la cinética de liberación (AP), los tiempos de incubación no presentaron diferencia significativa entre ellos para las tres muestras. Sin embargo, se puede observar que el contenido de compuestos va disminuyendo conforme el tiempo en el caso del BM, esto puede indicar que los compuestos son fácilmente liberados de la matriz en esta etapa, siendo más susceptibles a las condiciones del medio, como los son un pH alrededor de 7.2 y presencia de enzimas intestinales, propiciando su absorción, degradación o biotransformación durante el tiempo (Herrera-Cazares, et al., 2017).

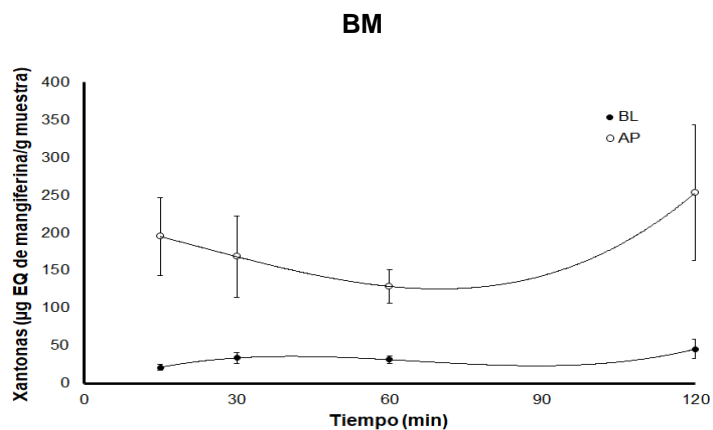
En el caso de los confites, la cinética de liberación es muy similar entre ambos, la mayor concentración de los ácidos fenólicos fue los 60 min de incubación y en cantidades muy parecidas a las del BM, esto es interesante, ya que los confites se adicionaron solo con un 56% de BM, sugiriendo que el proceso de extrusión libera de la matriz, por efecto del cizallamiento (Chávez, Ascheri, Carvalho, Godoy, & Pacheco, 2017), compuestos ligados, a la fibra dietaria, y estos a su vez, pueden estar siendo unidos a los ingredientes de la formulación como son grenetina, pectina y almidón resistente (Mandalari et al., 2016), de los cuales previamente se liberan en una parte en la etapa gástrica y haciéndolos así disponibles en la etapa intestinal (Velderrain-Rodríguez et al., 2014).

Respecto a los porcentajes de bioaccesibilidad, en el BM se encontraron alrededor de 18 a 24%; de 63 al 89% en el CBM y de 97 al 141% para el CE. La diferencia entre muestras, corrobora que la matriz alimentaria está teniendo una influencia en la liberación de los compuestos, así como el proceso de extrusión.

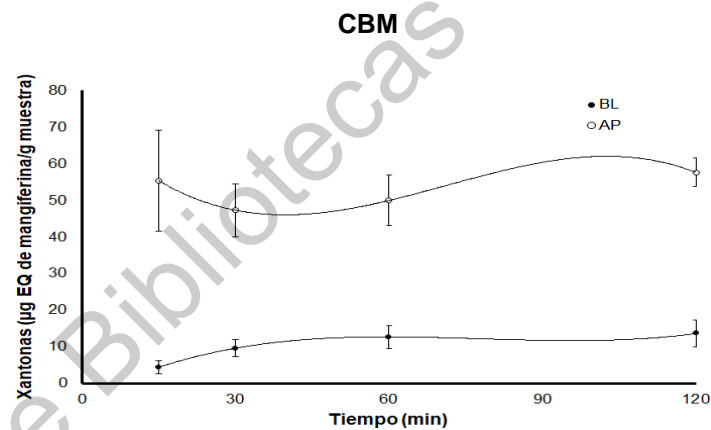
En la cinética de absorción (BL), la mayor concentración de ácidos fenólicos se observa a los 15 min de incubación para el BM, es decir que los compuestos que están siendo bioaccesibles rápidamente, también son absorbidos rápidamente. En el caso de los confites, es a los 120 min de incubación que se presentó la mayor cantidad de ácidos fenólicos absorbidos, tiempo en donde la bioaccesibilidad de los compuestos es menor; dicho comportamiento sugiere que un cambio en la matriz alimentaria, como lo es del BM a los confites, tiene un

efecto sobre el tiempo de absorción de los compuestos, reafirmando que la matriz empleada está protegiendo los compuestos del medio intestinal.

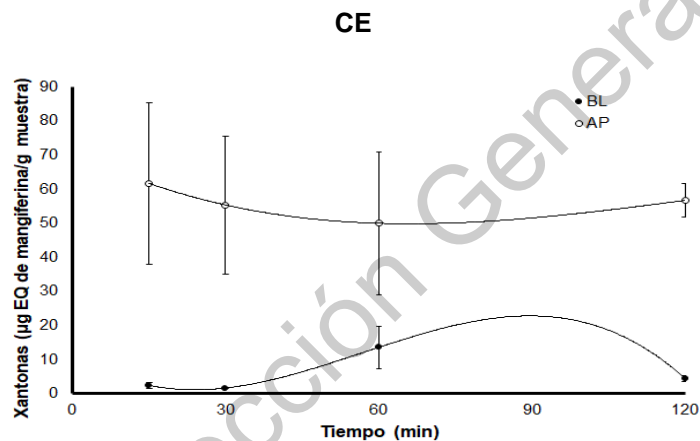
Con respecto al porcentaje de bioaccesibilidad en el AP, estos estuvieron entre 6 a 14 % para el BM, de 34 a 98 % para el CBM, y del 77 al 130% para el CE. Observando así que los compuestos procedentes del BM tienen un menor porcentaje de absorción respecto a los confites. El nutriente principal del BM es la fibra dietaria, la cual presenta cambios hasta la etapa del intestino grueso. Estudios anteriores han demostrado que el BM es una fuente altamente fermentable a nivel de colon, produciendo ácidos grasos de cadena corta, esta producción se relacionó con una sinergia entre la fibra dietaria y los compuestos polifenólicos embebidos en ellos (Herrera-Cazares et al., 2019). Es importante destacar que los porcentajes de absorción del CE fueron ligeramente mayores a los del CBM, esto nos sugiere que las interacciones de los ácidos fenólicos con la matriz alimentaria, son modificadas durante el proceso de extrusión, y esto a su vez, favorecer la absorción de los compuestos bioaccesibles. El transporte de compuestos hidrofílicos, como lo son los ácidos fenólicos, en el intestino delgado, es mediante diversos mecanismos, entre ellos: la difusión pasiva, el transporte activo mediado por portadora, el transporte facilitado y el paracelular en uniones estrechas (Domínguez-Avila et al., 2017).



AP $y = 0.0003x^3 - 0.0172x^2 - 1.4194x + 219.26$
 BL $y = 0.0002x^3 - 0.0435x^2 + 2.4302x - 6.3246$



AP $y = -0.0001x^3 + 0.0275x^2 - 1.5772x + 73.282$
 BL $y = 4E-05x^3 - 0.0099x^2 + 0.7256x - 4.4786$



AP $y = -2E-05x^3 + 0.0076x^2 - 0.7319x + 71.023$
 BL $y = -0.0002x^3 + 0.0261x^2 - 0.9845x + 11.824$

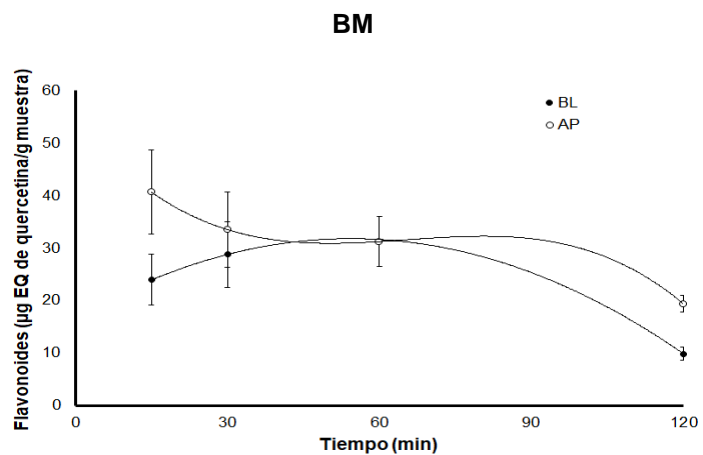
Cada valor representa la media de tres experimentos independientes \pm el error estándar. EQ, equivalentes; AP, Lado apical; BL, Lado basolateral; BM, bagazo de mango; CBM, confite adicionado con bagazo de mango; CE, confite adicionado con bagazo de mango y extrudido.

Figura 16. Contenido xantonas en la etapa intestinal de la digestión gastrointestinal *in vitro*.

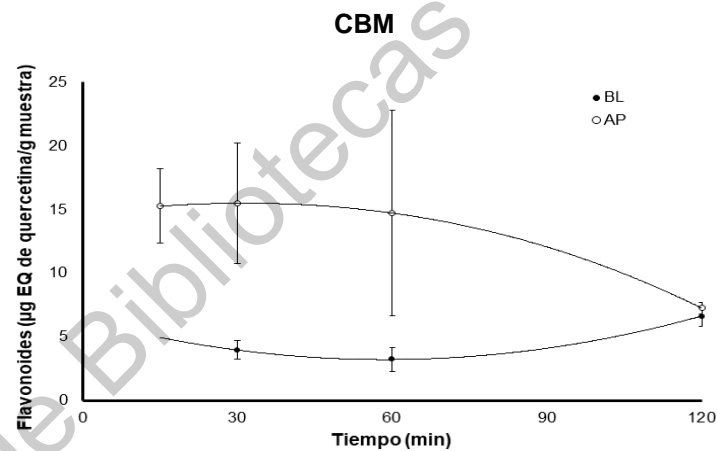
En la **Figura 16** se muestra el contenido de xantonas en la etapa intestinal; del lado apical y basolateral, durante la digestión gastrointestinal *in vitro*, así como el modelo matemático que mejor se ajusta ($R^2=1$ en todos los casos) a la cinética de liberación y absorción.

Con respecto a la cinética de liberación (AP) se observa que no hubo diferencia significativa entre los tiempos de incubación para las tres muestras. Esto nos puede sugerir que las condiciones del medio no están afectando la estabilidad de los compuestos durante el tiempo de incubación. En el BM se observaron porcentajes de bioaccesibilidad alrededor de 40 a 79%, del 225 al 275% para CBM y del 177 al 219% para CE. Estos valores nos indican un efecto del cambio de matriz alimentaria, al aumentar el porcentaje de liberación en los confites respecto al BM, sin embargo, no se encuentra diferencia entre los confites, lo que nos puede sugerir que no hay un efecto del proceso de extrusión, para estos compuestos en esta etapa. Anteriormente se mencionó que estos son compuestos altamente estables a cambios de pH y temperatura, además de que pueden ser fácilmente ligados a otros componentes de la matriz alimentaria (Beelders et al., 2017).

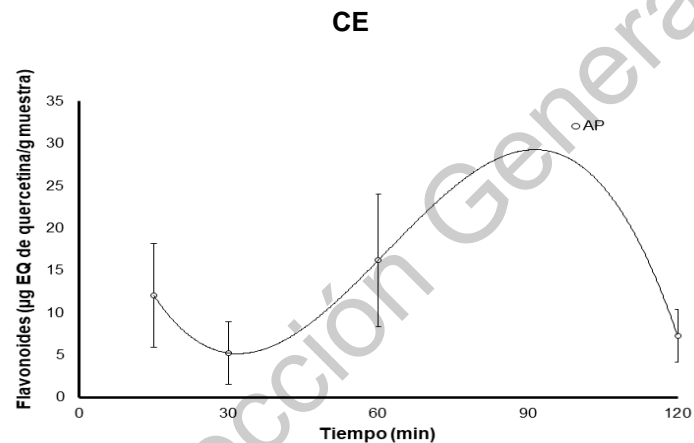
En el caso de las xantonas absorbidas (BL) los porcentajes de absorción, estuvieron alrededor de 6 a 14 % para BM, del 20 al 64% para CBM y del 8 al 48% para CE. Estos resultados sugieren que el cambio de matriz está afectando la absorción de estos compuestos. Los resultados coinciden con los reportado con anterioridad (Herrera-Cazares, et al., 2017). La absorción de estos compuestos cobra relevancia, ya que se han relacionado con amplios beneficios a la salud, por arriba de los ácidos fenólicos y flavonoides (Kulvinskien & Stasiulaitien, 2019). Cabe destacar que la absorción de estos compuestos es retroactiva a través del lado apical al lado basolateral (Gutierrez-Orozco & Failla, 2014).



AP $y = -1E-04x^3 + 0.0191x^2 - 1.1835x + 54.436$
 BL $y = -0.0051x^2 + 0.5527x + 16.757$



AP $y = -0.0011x^2 + 0.0682x + 14.444$
 BL $y = 0.0009x^2 - 0.107x + 6.3383$



AP $y = -0.0002x^3 + 0.0423x^2 - 2.0012x + 33.344$

Cada valor representa la media de tres experimentos independientes ± el error estándar. AP, Lado apical; BL, Lado basolateral; EQ, equivalentes; BM, bagazo de mango; CBM, confite adicionado con bagazo de mango; CE, confite adicionado con bagazo de mango y extrudido.

Figura 17. Contenido flavonoides en la etapa intestinal de la digestión gastrointestinal *in vitro*

En la **Figura 17** se muestra el contenido de flavonoides en la etapa intestinal; del lado apical y basolateral, durante la digestión gastrointestinal *in vitro*, así como el modelo matemático que mejor se ajusta ($R^2=1$ en todos los casos) a la cinética de liberación y absorción.

Respecto a la cinética de liberación (AP), muestra un comportamiento similar a la de los ácidos fenólicos en el BM. En la bibliografía se ha reportado una baja estabilidad de estos compuestos a pH similares al intestinal, lo que podría estar explicando dichos comportamientos (Karabin et al., 2014; Velderrain-Rodríguez et al., 2014). Mientras que para CBM y CE la mayor liberación se observó a los 60 min de incubación, esto sugiere que el cambio de matriz alimentaria influye en la liberación de los flavonoides respecto al tiempo. Los porcentajes de bioaccesibilidad, para el BM estuvieron entre el 24 a 50 %, de 190 a 400 % en el CBM y del 58 al 58.38% para el CE. Las diferencias puede deberse a que, en la etapa gástrica, la liberación de estos compuestos fue menor para el CBM respecto al CE, esto pudiera sugerir que el proceso de extrusión está haciendo de estos compuestos mayormente bioaccesibles en las condiciones gástricas. Esta idea se reafirma cuando se observa la cinética de absorción (BL) CE es nula (los valores están por debajo del límite de detección, por tanto, no cuantificados y no detectados), mientras que para CBM si reportó absorción.

Respecto a los porcentajes de absorción, el BM presentó de un 12 a 29% y de 83 a 173 % para el CBM. Estos resultados son similares a los encontrados por Herrera-Cazares et al., (2017), donde se observó que la quercetina estaba presente en el lado apical, no siendo así para el lado basolateral. Los autores atribuyeron la ausencia de dichos compuestos al hecho de que la estructura química de los flavonoides afectaba absorción. Sin embargo, en el presente estudio, se sugiere que el proceso de extrusión podría estar afectando la estructura química de los flavonoides y por ende la absorción de los compuestos, esto debido a que el CBM si presentó absorción de flavonoides. Es bien conocido que la absorción de flavonoides en el intestino delgado será solo de aquellos que se encuentren glucósidos (Hollman et al., 1996).

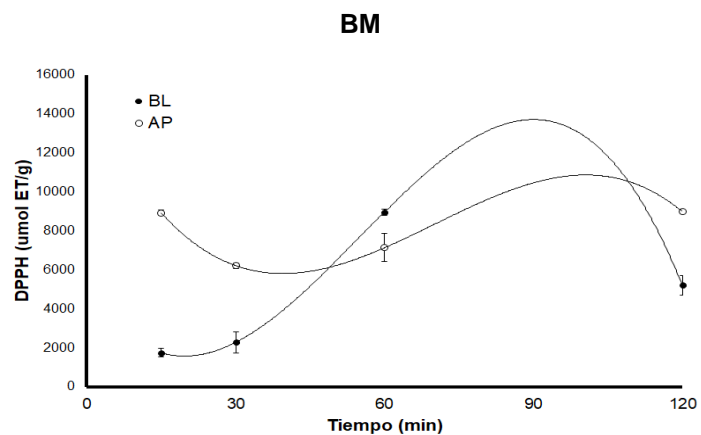
En las **Figura 18** y **Figura 19** se muestran los resultados de la capacidad antioxidante por el método de DPPH y ABTS durante la etapa intestinal, tanto del lado apical como del basolateral. Se observa una marcada diferencia en las cinéticas de liberación y absorción cuando existe un cambio de matriz así como por el proceso de extrusión.

En el caso del BM las cinéticas de liberación (AP) y absorción (BL) de los ácidos fenólicos son muy similares al comportamiento de la capacidad antioxidante mediante el método de ABTS.

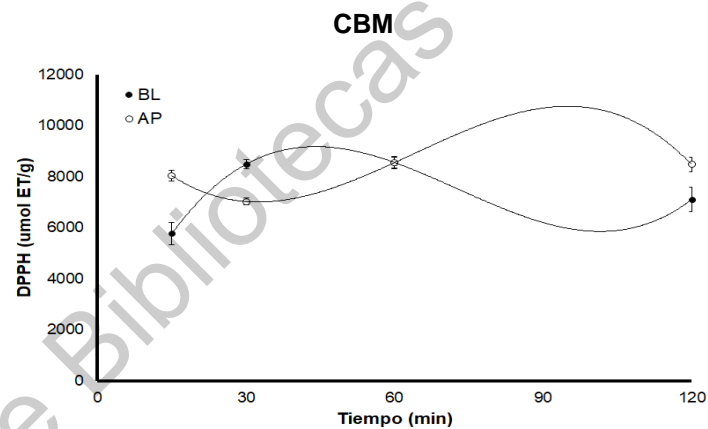
Para el CBM la cinética de liberación (AP) y absorción (BL) de los ácidos fenólicos es similar al comportamiento de la capacidad antioxidante mediante el método ABTS, mientras que las de las xantonas son similares al comportamiento encontrado mediante el método DPPH.

Con respecto al CE, la cinética de liberación mediante ambos métodos probados presentó un comportamiento parecido a la de los ácidos fenólicos, mientras que la de absorción es muy similar al de las xantonas, en el caso de DPPH y a la de ácidos fenólicos para ABTS.

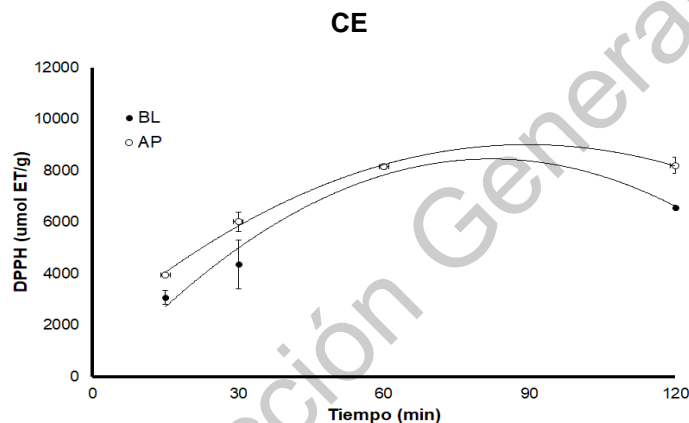
Campos-Vega et al., (2015) estudiaron los cambios de la capacidad antioxidante durante la digestión gastrointestinal de un subproducto de café, los autores realizaron correlaciones de la capacidad antioxidante con los compuestos polifenólicos y encontraron que esta no solo dependía de un grupo de polifenoles, sino de la sinergia que había entre estos en los diferentes medios de la digestión gastrointestinal. Los resultados reportados son parecidos a los que se encuentran en este trabajo, sin embargo se sugiere hacer un estudio de correlación.



AP $y = -0.0445x^3 + 9.3583x^2 - 531.11x + 14930$
 BL $y = -0.0697x^3 + 11.461x^2 - 369.83x + 4944.8$



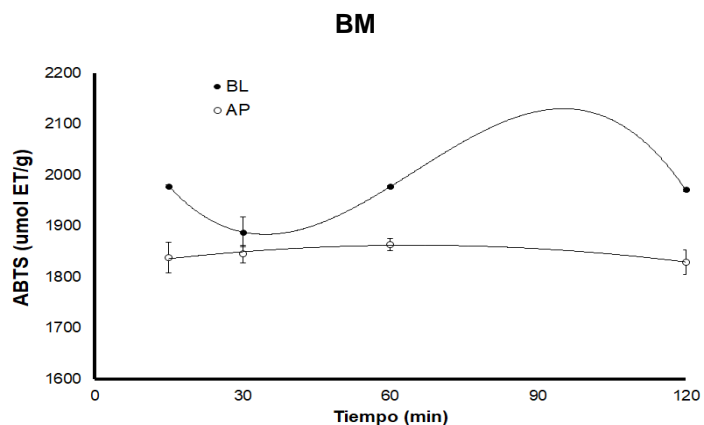
AP $y = -0.0306x^3 + 5.8543x^2 - 283.06x + 11072$
 BL $y = 0.035x^3 - 7.6396x^2 + 469.57x + 324.38$



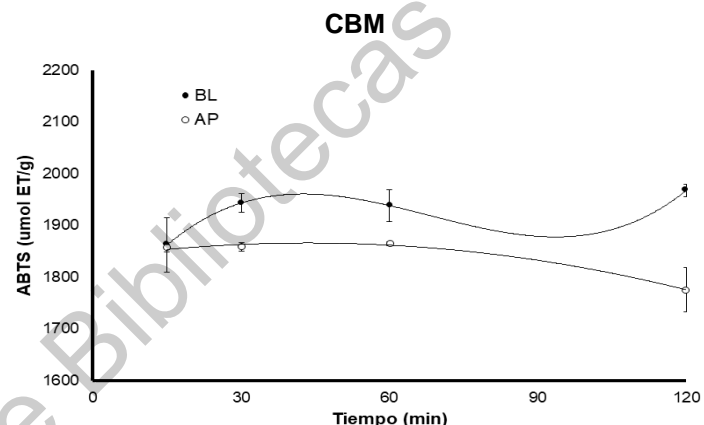
AP $y = -0.8915x^2 + 159.67x + 1855.7$
 BL $y = -1.2742x^2 + 209.24x - 142.67$

Cada valor representa la media de tres experimentos independientes \pm el error estándar. ET, equivalentes de trolox; AP, Lado apical; BL, Lado basolateral; BM, bagazo de mango; CBM, confite adicionado con bagazo de mango; CE, confite adicionado con bagazo de mango y extrudido.

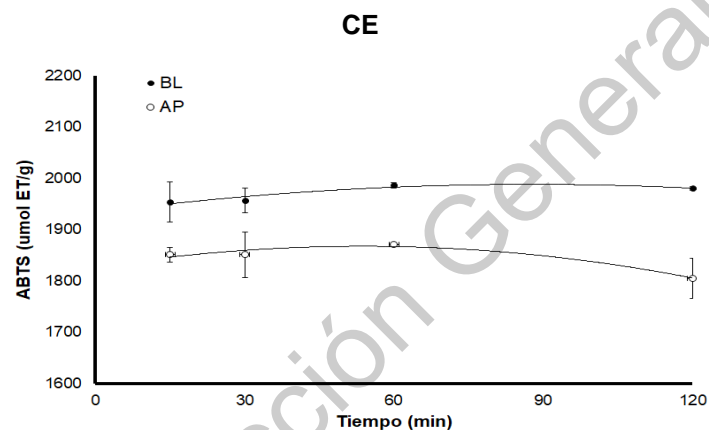
Figura 18. Capacidad antioxidante en la etapa intestinal de la digestión gastrointestinal *in vitro* mediante el método DPPH.



AP $y = -0.0107x^2 + 1.39x + 1817.2$
 BL $y = -0.002x^3 + 0.43x^2 - 21.97x + 2217.7$



BL $y = -0.0154x^2 + 1.3442x + 1836.5$
 AP $y = 0.0012x^3 - 0.2546x^2 + 14.894x + 1691.7$



AP $y = -0.0141x^2 + 1.5133x + 1826.7$
 BL $y = -0.0072x^2 + 1.2617x + 1932.7$

Cada valor representa la media de tres experimentos independientes \pm el error estándar. ET, equivalentes de trolox; AP, Lado apical; BL, Lado basolateral; BM, bagazo de mango; CBM, confite adicionado con bagazo de mango; CE, confite adicionado con bagazo de mango y extrudido.

Figura 19. Capacidad antioxidante en la etapa intestinal de la digestión gastrointestinal *in vitro* mediante el método

ABTS.

7.4 Permeabilidad aparente, coeficiente de permeabilidad y flujo durante la etapa intestinal.

En el **Cuadro 9** se presentan los valores de permeabilidad aparente durante la etapa intestinal de la digestión gastrointestinal *in vitro*. En el caso de los ácidos fenólicos, se observó que a los 60 y 120 min de incubación los valores excreción (P_{app} BL→AP) y los de absorción (P_{app} AP→BL) son muy similares, sugiriendo así un equilibrio dinámico de absorción y excreción de estos compuestos. Este comportamiento se presentó en todas las muestras evaluadas.

Cuadro 9. Cambios en la permeabilidad aparente de los compuestos polifenólicos durante la etapa intestinal.

Tiempo (min)	P_{app} (cm/s) AP→BL x 10 ⁻⁶			P_{app} (cm/s) BL→AP x 10 ⁻⁶		
	BM	CBM	CE	BM	CBM	CE
Ácidos Fenólicos						
15	90±2.1	29.2±1.1	29.8±0.6	62±11	57±1.9	55.7±7.4
30	9.9±0.2	13.4±2.3	10.3±0.7	27±9.9	36.4±2.3	31±1.5
60	11±1.0	16.3±0.4	12.8±0.7	11±0.8	18.8±0.2	18.7±3.4
120	7.2±0.6	10.4±0.3	8.6±0.6	7.2±1.0	6.6±2.3	6.5±0.6
Flavonoides						
15	59±12	NP	NP	102±6.0	98±14.9	44±22.1
30	18±3.9	6.4±1.2	NP	41.4±8.9	45.7±9.3	8.3±4.9
60	NP	4.8±0.9	NP	19.3±1.4	19.6±8.6	16.7±9.3
120	2.9±0.2	5.3±0.3	NP	6±0.1	59±0.43	3.7±1.3
Xantonas						
15	7.1±1.4	2.4±0.7	1.7±0.	64±1	31.6±3.9	46±17.0
30	2.8±0.6	1.4±0.4	0.3±0.03	28±9.2	14±0.4	20.2±5.5
60	2.6±0.4	1.8±0.2	3.2±0.3	10±0.8	7.4±0.9	9.4±4.5
120	2.1±0.7	0.8±0.1	0.4±0.1	9.9±1.6	4.2±0.3	5.3±0.5

Cada valor representa la media de tres experimentos independientes con tres repeticiones. NP, no presenta permeabilidad; P_{app} , permeabilidad aparente por sus siglas en inglés; BL, lado basolateral del intestino delgado; AP lado apical del intestino delgado; BM, bagazo de mango; CBM, confite adicionado con bagazo de mango; CE, confite adicionado con bagazo de mango y extrudido.

En el caso de los flavonoides, es importante destacar que estos no fueron absorbidos al provenir del CE, mientras que para el BM y el CBM se observan valores mayores de excreción que de absorción. Este comportamiento es similar a lo reportado con anterioridad (Herrera-Cazares, et al., 2017). Se ha observado que la absorción de flavonoides es menor cuando estos están glucosidados (Y. Wang, Liu, Chen, & Zhao, 2013), también, que al presentar esta estructura química su afinidad a las proteínas disminuye dependiendo la posición en donde está unida el azúcar (Xiao, Cao, Wang, Zhao, & Wei, 2009). Esto pudiera estar explicando las diferencias de absorción entre muestras. Mismo comportamiento se puede observar para las xantonas, donde los valores de excreción son mayores a los de absorción para las tres muestras.

Una baja absorción de los compuestos polifenólicos ha sido bien conocida, sin embargo, esto no es del todo malo ya que, a su paso por el colon, pueden inducir amplios beneficios como lo es el favorecimiento de ácidos grasos de cadena corta, una ambiente antioxidante en el colón entre otros beneficios (Velderrain-Rodríguez et al., 2014).

Cuadro 10. Cambios en la permeabilidad aparente neta y el flujo de los compuestos polifenólicos durante la etapa intestinal.

Tiempo (min)	Papp _{neto} (cm/s) A→B - B→A x 10 ⁻⁶			Relación de flujo (B→A)/(A→B)		
	BM	CBM	CE	BM	CBM	CE
Ácidos Fenólicos						
15	28±13	-27.8±1.5	-26±7.6	0.7	2.0	1.9
30	-17±10	-23±3.3	-20.7±2.1	2.7	2.9	3.1
60	-13±10	-2.6±0.7	-5.9±3.4	1.1	1.2	1.5
120	0.1±0.1	3.7±2.1	2.1±1.1	1.0	0.6	0.8
Flavonoides						
15	-43.5±9.4	-98±14.9	-48±22.1	1.9	ND	NP
30	-23.6±6.7	-39.3±9.1	-8.3±4.9	2.4	7.5	NP
60	-19.3±1.4	-14.8±7.8	-16.7±9.3	ND	3.8	NP
120	-3±0.3	-0.6±0.3	-3.7±1.3	2.0	1.1	NP
Xantonas						
15	-57±14	-29.2±3.3	-44.3±16.8	10.5	15.7	25.1
30	-26±8.9	-12.6±0.3	-19.9±5.5	10.5	11.7	71.7
60	-7.80±1.2	-55.1±1.1	-6.2±4.2	4.3	4.3	2.7
120	-7.7±2.2	-3.3±0.3	-4.9±4.1	6.0	4.5	13.0

Cada valor representa la media de tres experimentos independientes con tres repeticiones. NP, no presenta permeabilidad; P_{app}, permeabilidad aparente por sus siglas en inglés; BL, lado basolateral del intestino delgado; AP lado apical del intestino delgado; BM, bagazo de mango; CBM, confite adicionado con bagazo de mango; CE, confite adicionado con bagazo de mango y extrudido.

En el **Cuadro 10** se presentan los cambios en la permeabilidad neta y el flujo de los compuestos polifenólicos durante la etapa intestinal, donde es importante destacar que valores de permeabilidad aparente neta (Papp_{neto}) mayores a 1×10^{-6} significan alta permeabilidad y menores a 1×10^{-7} indican baja permeabilidad (Artursson, Palm, & Luthman, 2001). En este sentido podemos observar que los compuestos polifenólicos procedentes de las tres muestras en los tiempos 15, 30 y 60 min de incubación tienen una baja permeabilidad. Pacheco-Ordaz et al.,(2018) probaron la permeabilidad de compuestos polifenólicos extraídos de la cáscara de mango, donde observaron valores de permeabilidad mayores a 1×10^{-6} , es decir, la baja permeabilidad la atribuyeron a que los compuestos polifenólicos pudieran estar actuando de forma antagónica y obstruir la absorción de otros

compuestos. Esto pudiera explicar la baja permeabilidad de los polifenoles procedentes de las muestras analizadas, ya que estos no están purificados.

Con respecto a la relación de flujo, valores menores a 0.5 pero mayores a 2.0 indican mecanismos de absorción del tipo transporte activo (Hubatsch, Ragnarsson, & Artursson, 2007; Luzardo-Ocampo et al., 2018). Los valores que se obtuvieron son mayores a 2.0 lo que indica transporte pasivo de los compuestos polifenólicos para las tres muestras. Los transportes activos utilizan diferentes mecanismos acoplados a la energía que crean gradientes de iones/ soluto a través de las membranas (Domínguez-Avila et al., 2017).

Dirección General de Bibliotecas UAG

7.5 Identificación de compuestos polifenólicos.

En el **Cuadro 11** se presenta la caracterización de los compuestos polifenólicos encontrados en las muestras, entre ellos se encontraron ácidos fenólicos simples, ácidos fenólicos glucósidos, ácidos fenólicos metilados, flavonoides, xantonas, benzofenonas y galotaninos. La mayoría de estos compuestos ya se han reportado en subproductos del mango como el bagazo, la cascara, el hueso, las hojas y la pulpa (las referencias bibliográficas se colocan en el cuadro para cada compuesto).

Dirección General de Bibliotecas UAO

Cuadro 11. Caracterización de compuestos polifenólicos

Pico	TR (min)	Formula molecular	Compuesto	λ_{\max} (nm)	$[M-H]^-$ (m/z)	Masa precisa	Referencia
1	1.42	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	Ácido clorogénico ^a	231 276	353.0716	354.0789	(Lifford, Ohnston, Night, & Uhnert, 2003)
2	1.52	C ₈ H ₈ O ₄	Ácido vainillínico ^a	228 230 271	169	170	(Palafox-Carlos et al., 2012)
3	1.53	C ₇ H ₆ O ₅	Ácido gálico ^a	271	169.0157	170.0221	(Pacheco-Ordaz & Antunes-Ricardo, et al., 2018)
4	1.75	C ₁₃ H ₁₆ O ₁₀	Galoil glucósido ^a	279	331.0656	332.0729	(Dorta, González, Lobo, Sánchez-moreno, & Ancos, 2014)
5	3.19	C ₂₆ H ₂₄ O ₁₅	Maclurin mono-O-galoil-glucósido ^a	230 282	575.0967	576.104	(Berardini, Carle, & Schieber, 2004; Laulloo, Bhowon, Soyfoo, & Chua, 2018)
6	3.58	C ₁₄ H ₁₀ O ₉	Ácido digálico ^a	228 270	321	322	(Mar, Ana, Segura-carretero, & Fern, 2016)
7	4.07	C ₈ H ₈ O ₅	Metil galato ^a	275	183.0314	184.0387	(Vazquez-Olivo et al., 2019)
8	4.21/ 6.74	C ₂₇ H ₂₄ O ₁₈	Trigaloil glucósido ^a	228 274	635.0799	636.0872	(Tan, Ling, & Chuah, 2011)
9	5.91	C ₄₀ H ₃₂ O ₂₃	Maclurin-3-C'-(2'',3'', 6''-O-galloyl)-β-d-glucósido ^a	229 279	727.1032	728.1105	(Derese, Guantai, Souaibou, & Kuete, 2017)
10	6.46	C ₂₀ H ₂₀ O ₁₁	Homomangiferina ^b	240 259	435.0896	436.0969	(Laulloo et al., 2018)

				316				
				367				
				240				
11	6.87	C ₁₉ H ₁₈ O ₁₁	Mangiferina ^b	257	421.0735	422.0808		(Pacheco-Ordaz & Antunes-Ricardo, et al., 2018)
				316				
				366				
12	7.29	C ₁₉ H ₁₈ O ₁₁	Isomangiferina ^b	240				(Pacheco-Ordaz & Antunes-Ricardo, et al., 2018)
				259	421.0736	422.0844		
				316				
				367				
13	7.79	C ₉ H ₁₀ O ₅	Etil galato ^a	228	197	198		(Dorta et al., 2014)
				275				
14	13.44	C ₁₅ H ₁₂ O ₉	Metil digalato éster ^a	229	335.0397	336.0469		(Dorta et al., 2014)
				279				
15	11.83	C ₂₁ H ₁₉ O ₁₂	Quercetina-3-O-glucosido ^c	254	463	464		(Dorta et al., 2014)
				356				
16	14.62	C ₄₁ H ₃₂ O ₂₆	Penta-galoil-glucósido ^a	230	939.0937	940.101		(Dorta et al., 2014; Sáyago-Ayerdi et al., 2013)
				280				
17	16.52/ 18.4		Hexa-galoil – glucósido ^a	218	1091.101	1092.1089		(Laulloo et al., 2018)
				281	7			
18	17.26	C ₂₆ H ₁₆ O ₁₃	Rhamnetin-3-[6"-2-butenoil-hexosido] ^a	230	545.0515	1092.1176		(Dorta et al., 2014)
				279				
19	19.01		Hepta-O-galoil-glucósido ^a	234	621.0543	1244.1162		(Sáyago-Ayerdi et al., 2013)
				280				
20	19.83		Octa-O-galoil-glucósido ^a	233	697.0573	1396.1236		(Sáyago-Ayerdi et al., 2013)
				278				
				258				
21	19.90 7	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	Quercetina ^c	271	301.0343	302.0410		(Pacheco-Ordaz & Antunes-Ricardo, et al., 2018)
				360				

^a Compuestos detectados a 280nm. ^b Compuestos detectados a 360nm. ^c Compuestos detectados a 365 nm

7.6 Determinación de la biotransformación

El cálculo del porcentaje de variación se realizó de acuerdo a lo reportado por Mosele, Macià, Romero, & Motilva, et al., (2016) de la siguiente manera:

$$\%Var = [(C_{etapa} * 100)/C_i]-100$$

Dónde:

%Var= Porcentaje de variación

C_{etapa} = Es la concentración del compuesto en la etapa de la digestión gastrointestinal *in vitro* (oral, gástrica o intestinal). Esta fue cuantificada como μg eq. de ácido gálico, manguiferina o quercetina/ g de muestra.

C_i = Es la concentración del compuesto encontrada en la fracción libre más la fracción ligada de la extracción de compuestos polifenólicos. Esta fue cuantificada como μg eq. de ácido gálico, manguiferina o quercetina/ g de muestra.

Este parámetro nos permite conocer la variación del compuesto, es decir, si disminuye o aumenta durante la digestión gastrointestinal *in vitro*, valores positivos indicaran aumento por arriba del contenido inicial de la muestra, mientras que valores negativos nos indicaran disminuciones por debajo del contenido inicial de la muestra.

En el **Cuadro 12** se presentan los porcentajes de variación de los compuestos encontrados en la etapa oral para cada muestra analizada. Se observó que para el CBM y el CE, ácido gálico y clorogénico fueron encontrados en un mayor porcentaje respecto al BM de hasta un 600%. Por otra parte, un bajo porcentaje de los galotaninos puede ser debido a que la mayoría de ellos están embebidos en la matriz alimentaria. De acuerdo con los análisis proximales, el BM es rico en fibra dietaria; se sabe que estos compuestos ricos en grupos hidroxilo pueden unirse por enlaces no covalentes a la celulosa o por enlaces hidrogeno a la pectina (Domínguez-avila et al., 2017), este pudiera estar siendo el caso del BM y, que los pocos que están siendo bioaccesibles en esta etapa, sufren una hidrólisis enzimática o hidrólisis limitada de glucósidos por parte de la microflora bucal que libera estos compuestos de la glucosa a la que está unida (Burton-

Freeman et al., 2017), haciendo así que el porcentaje de variación de ácidos simples aumente. Así también, la presencia de octagaloiil glucosido en BM pero no en los confites sugiere que este compuesto está siendo el mayormente hidrolizado respecto a los otros galotaninos en estas dos muestras, lo que por una parte justificaría el mayor porcentaje encontrado de los ácidos fenólicos simples en los confites respecto al BM. Cabe mencionar que estos compuestos solo se encontraron en la fracción libre.

Cuadro 12. Cambios en el porcentaje de variación en la etapa oral de la digestión gastrointestinal *in vitro*.

Compuesto	BM	CBM	CE
Ácido clorogénico	8.3	542.7	666.5
Ácido gálico	47.2	419.8	599.2
Galoil glucósido	ND	390.9	ND
Maclurin mono-O-galoil-glucósido	47.2	-98.7	ND
Ácido digálico	ND	233.5	-97.2
Metil galato	ND	390.9	313.3
Maclurin-3-C'-(2'',3'', 6''-O-galloil)-β-d-glucósido	-71.2	255.1	136.9
Trigaloil glucósido	-28.4	104.0	2087.5
Etil galato	ND	-76.6	-52.0
Metil digalato éster	ND	-65.7	1198.4
Hexa-galoil –glucósido	-98.4	-75.7	126.6
Hepta-O-galoil- glucósido	-94.5	-94.4	-22.5
Octa-O-galoil- glucósido	-98.0	ND	ND
Dimero de mangiferina	ND	-88.7	-87.5
Mangiferina	-43.2	274.2	285.4
Isomangiferina	538.5	-93.2	-77.2
Homomangiferina	ND	-90.0	-49.4
Quercetina-3-O-glucosido ^c	-52.0	742.0	176.6

Los resultados se presentan como el porcentaje de variación, considerando la concentración inicial en la muestra como el 100%. ND, no detectado; BM, bagazo de mango; CBM, confite adicionado con bagazo de mango; CE, confite adicionado con bagazo de mango y extrudido.

También, ácidos fenólicos metilados como metil y etil galato, metil galato ester y ácido digalico fueron encontrados en mayor porcentaje en el CE respecto al CBM y el BM. Se sabe que el proceso de extrusión podría liberar los compuestos fenólicos de la pared celular del material vegetal, haciéndolos así más disponibles lo cual pudiera explicar lo observado (T. Wang et al., 2014).

Es importante mencionar que en la extracción de los compuestos polifenólicos se logró detectar y cuantificar quercetina para las tres muestras, sin embargo durante la digestión sólo logró detectar quercetina glucósido. En este sentido, BM fue la muestra con menor porcentaje de variación respecto a los confites. Lucas-Gonzalez et al., (2016) sometieron a una digestión gastrointestinal *in vitro* bayas de maqui (*Aristotelia chilensis*) donde encontraron que los derivados de quercetina mostraban un decremento del 53% esto lo atribuyeron a que estos compuestos pueden estarse uniendo a la matriz alimentaria a través de enlaces de hidrogeno, enlaces covalentes o interacciones hidrofóbicas y que, debido a la poca actividad de la α -amilasa, estos compuestos no están siendo liberados en la fase oral.

En el caso de las xantonas, la mangiferina presentó un mayor porcentaje de variación cuando proviene de los confites, mientras que la isomangiferina fue mayor para el BM. La diferencia entre estos compuestos es el acomodo de la molécula de glucosa en el espacio, en la mangiferina, la glucosa se encuentra unida al carbono 2, mientras que en la isomangiferina está unida en el carbono 4 (Beelders et al., 2017). Los resultados sugieren que la posición de la molécula de la glucosa está relacionado con su liberación o unión a la matriz alimentaria, es decir, que la isomangiferina pudiera tener una afinidad de unirse a matrices proteicas. Mientras que la mangiferina a matrices ricas en carbohidratos.

Tanto el dimero de mangiferina como la homomangiferina fueron detectados para los confites y no para el BM, en porcentajes menores al encontrado en la muestra inicial. Al no existir una importante diferencia de los porcentajes de variación entre los confites, en el caso del dimero de mangiferina, indica que la extrusión no está afectando la liberación de este compuesto en la

etapa oral. Caso diferente es el de la homomangiferina, donde el porcentaje de variación es menor cuando el confite es extrudido, esto sugiere, que el proceso de extrusión está incorporando dicho compuestos a la matriz del confite.

En el **Cuadro 13** se presentan los porcentajes de variación de los compuestos encontrados en la etapa gastrointestinal para las tres muestras, donde se observa que los ácidos fenólicos simples presentaron un porcentaje de variación mayor en los confites respecto al BM y mayores respecto a la etapa oral.

Cuadro 13. Cambios en el porcentaje de variación en la etapa gástrica de la digestión gastrointestinal *in vitro*.

Compuesto	BM	CBM	CE
Ácido clorogénico	26.9	1228.3	929.4
Ácido gálico	68.1	995.0	780.9
Galoil glucósido	24.7	166.5	ND
Maclurin mono-O-galoil-glucósido	36.9	1220.3	733.3
Ácido di gálico	ND	-97.3	-96.3
Metil galato	-66.4	525.4	437.9
Maclurin-3-C'-(2",3", 6"-O-galloyl)- β -d-glucósido	4.8	201.2	167.9
Trigaloil glucósido	44.2	76.1	2474.2
Etil galato	ND	-34.5	-41.9
Metil digalato éster	-65.7	229.1	2718.5
Penta-galoil- glucósido	-65.3	ND	ND
Hexa-galoil –glucósido	-65.3	-42.7	400.0
Hepta-O-galoil-glucósido	-18.4	507.3	91.2
Dimero de manguiferina	-13.3	-52.8	-72.6
Mangiferina	1.3	698.1	380.2
Isomangiferina	613.3	-94.9	-78.8
Homomangiferina	114.4	-78.7	ND
Quercetina-3-O-glucosido	-33.2	1217.3	311.4

Los resultados se presentan como el porcentaje de variación, considerando la concentración inicial en la muestra como el 100%. ND, no detectado; BM, bagazo de mango; CBM, confite adicionado con bagazo de mango; CE, confite adicionado con bagazo de mango y extrudido.

El comportamiento de los galotaninos en el BM, pudiera sugerir que estos se hidrolizan y/o deglicosilan por efecto del pH en el estómago (Burton-Freeman et al., 2017), en un orden de menor peso molecular a mayor peso molecular. Por otra parte, la presencia de hexa y hepta galoil glucosido en los confites, no siendo así en el BM, sugiere que estos se unen a la matriz alimentaria de los confites, siendo menos susceptibles al medio de la etapa gastrointestinal, particularmente el hexagaloil glucosido que se presentó con valores mayores en el CE respecto al BM y el CBM, indica una modificación de la bioaccesibilidad por el proceso de extrusión. La unión de los compuestos polifenólicos a las proteínas depende de la estructura de ambas moléculas, por ejemplo, compuestos con peso molecular alto, como los galotaninos se unen fuertemente a las proteínas, también a mayor presencia de grupos hidroxilo en el compuesto polifenólicos aumenta el orden de unión a las proteínas (Jakobek, 2015); esto pudiera explicar la diferencia del comportamiento de los galotaninos entre los confites, adicionados con grenetina, respecto al BM

Para el caso de los compuestos metilados, etil galato solo se detectó en los confites con valores negativos, mientras que el metil galato así como el metil digalato éster se encontraron en valores negativos para el BM, no siendo así para los confites y siendo mayor el porcentaje de variación para el CE. Se ha reportado que una mayor cantidad de grupos galato, como el metil digalato ester, incrementa la interacción de estos compuestos con carbohidratos (Bautista-ortín, Cano-lechuga, Ruiz-garcía, & Gómez-plaza, 2014; Jakobek, 2015), que estos pudieran estarse liberando en el proceso de extrusión y a su vez unirse con los compuestos polifenólicos.

En el caso de las benzofenonas, el CBM presentó los mayores porcentajes de variación respecto al BM y el CE, esto indica una mayor liberación de estos compuestos embebidos en una matriz que no tuvo un proceso de extrusión, lo que sugiere que dicho proceso hace que estas se incorporaren a la matriz protegiéndolas del medio de esta etapa. Caso similar se observa para la liberación de quercetin glucosido. Como se mencionó anteriormente, en la etapa

gástrica tiene lugar una alta hidrólisis de carbohidratos, esto sugiere que las benzofenonas y el quercetin glucósido tienen afinidad a unirse a carbohidratos, y que al momento de someterse al medio gastrointestinal, las interacciones entre ellos son disminuidas y por tanto, volverlos mayormente bioaccesibles (Jakobek, 2015; Lucas-gonzalez et al., 2016).

Por otra parte, el dímero de manguiferina presentó valores negativos para las tres muestras, indicando que está siendo hidrolizado en este medio, formando moléculas de mangiiferina, ya que presentó en valores positivos para ambas muestras, siendo mayor para el caso de los confites. Sin embargo, la isomangiferina y homomanguiferina presentaron mayores cantidades en el BM que en los confite, sugiriendo que al estar mayormente expuesta en una matriz alimentaria como el BM, esta es susceptible para su liberación.

En el **Cuadro 14** se presentan los cambios en el porcentaje de variación de los compuestos polifenólicos encontrados para cada muestra durante la etapa intestinal a diferentes tiempos de incubación, tanto en el lado basolateral como en el lado apical.

Como ya se mencionó anteriormente, el lado apical, es el lado considerado como el que está a la luz del intestino, aquí se presentan aquellos compuestos que hasta esta etapa se liberaron de la matriz alimentaria y están bioaccesibles para su absorción.

En el caso de los ácidos fenólicos simples como el ácido gálico y el clorogénico presentaron un porcentaje de variación un poco mayor a la etapa gastrointestinal, siendo el CBM el mayor entre las tres muestras. Por otra parte, el cambio en el porcentaje de variación para los galotaninos fue diferente para cada uno.

Para el caso del ácido digalico este presentó valores negativos para las 3 muestras, cabe mencionar que en la etapa gastrointestinal no fue así, esto indica que este compuesto está siendo hidrolizado mayoritariamente en esta etapa por las condiciones del intestino. Quirós-Sauceda et al., (2019) sometieron mango en diferentes estados de madurez a una digestión gastrointestinal *in vitro*, donde

observaron que los ácidos fenólicos aumentaban en la etapa intestinal, esto lo atribuyeron a la alta hidrólisis que existe en esta etapa por la presencia de las enzimas intestinales como la α -amilasa y β -glucosidasa.

Para el caso de trigaloil glucosido este presentó valores negativos para el BM y valores positivos para los confites, siendo el CE el de mayor valor. De acuerdo a lo observado, es posible sugerir que la liberación de este compuesto durante la digestión gastrointestinal está influenciado por un cambio de matriz alimentaria y mejorado si esta es sometida a un proceso de extrusión. Esto reafirma la aseveración de que compuestos con mayor número de grupos galato pueden ser unidos a la matriz alimentaria, mayoritariamente proteica y que el proceso de extrusión mejore esta unión (Jakobek, 2015).

Hexagaloil glucósido presentó valores negativos y menores a la etapa anterior en el caso del BM; para el caso del CBM, este compuesto no se logró detectar, no siendo así para la etapa anterior; y para el caso de CE se encontraron valores negativos, contrario a lo que se observó en la etapa gastrointestinal. Esto nos indica que este compuesto sigue estando susceptible a hidrolisis, sin embargo esta difiere de la matriz alimentaria en la que se encuentre e incluso la influencia del proceso de extrusión es importante para este compuesto.

Galotaninos más complejos como el octa y hepta galoil glucósido no se detectaron en esta etapa para el BM, caso contrario se observa para el CBM pero en valores negativos, es decir, que la matriz está influenciando el su hidrolisis en la etapa gástrica y la disminución de este indica una hidrolisis en la etapa intestinal. Cabe mencionar que el octagaloil glucósido no se logró detectar en la etapa gástrica, lo que pudiera sugerir que este está siendo liberado de la matriz alimentaria que no fue extrudida en la etapa intestinal.

Por otra parte, benzofenonas con una sola molécula de glucosa presentaron valores negativos para las tres muestras, no siendo así en la etapa anterior, al tener moléculas de glucosa unidad la estructura, estas son susceptibles a su hidrolisis en la etapa intestinal.

En el caso de las xantonas, manguiferina presentó valores negativos para el BM, valores positivos para el CBM y no se logró detectar para el CE; sin embargo isomanguiferina presentó valores positivos para el CE, valores negativos para el CBM y no se logró detectar en el BM; mientras que homomanguiferina no se detectó para el BM ni para el CE y para el CBM presentó valores negativos. Estos comportamientos nos sugieren que la bioaccesibilidad de las xantonas está siendo influenciada tanto por la matriz del alimento como por el proceso de extrusión. Hernandez-Maldonado et al., (2019) elaboraron una barra con subproductos de bagazo de mango y encontraron que la liberación de manguiferina en la etapa intestinal era menor que en la gástrica, esto lo atribuyeron a la acción de enzimas intestinales, esto mismo podría explicar el comportamiento de las xantonas para las muestras analizadas en el presente trabajo.

En el caso de la quercetina, esta presentó valores negativos para el BM pero similares que a la etapa anterior, Por otra parte para el CBM presentó valores positivos similares a los de la etapa anterior y mayores a los del CE. Este comportamiento puede indicar que este compuesto está siendo estable a los cambios de pH durante la digestión gastrointestinal (Karabin et al., 2014).

Cuadro 14. Cambios en el porcentaje de variación en la etapa intestinal de la digestión gastrointestinal *in vitro*.

Compuesto	Muestra	BL				AP			
		Tiempo de incubación (min)				Tiempo de incubación (min)			
		15	30	60	120	15	30	60	120
Ácido clorogénico	BM	390.9	30.0	71.7	104.4	119.7	114.2	105.4	106.2
	CBM	415.2	1044.9	1430.4	1913.8	1080.3	1425.8	1561.5	1032.2
	CE	459.4	564.1	897.9	1261.0	798.1	923.0	1120.8	822.1
Ácido gálico	BM	-14.0	-69.8	-30.0	0.3	34.7	16.8	-8.6	44.0
	CBM	165.3	358.6	242.3	296.0	341.4	381.3	386.3	323.8
	CE	100.1	94.1	168.5	262.4	288.2	242.3	245.7	180.0
Maclurin mono-O-galoil-glucósido	BM	ND	ND	ND	ND	-36.3	-52.3	-59.2	-53.0
	CBM	ND	ND	ND	ND	-48.3	-38.5	-45.9	-66.0
	CE	-2.1	1.7	59.7	188.8	183.1	-58.4	-73.7	-84.6
Ácido di gálico	BM	ND	ND	ND	-98.8	-97.5	-96.7	-97.6	-97.0
	CBM	-99.6	-99.2	-99.3	-99.0	-98.8	-98.5	-98.3	-98.6
	CE	ND	ND	ND	ND	ND	-97.4	-97.6	-96.7
Metil galato	BM	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	CBM	-5.2	107.5	156.4	328.1	140.1	188.6	191.4	109.6
	CE	-29.1	17.7	31.2	127.6	ND	172.0	-164.5	54.1
Maclurin-3-C'-(2'',3'', 6''-O-galloil)-β-d-glucósido	BM	353.1	-88.1	ND	-84.5	ND	ND	ND	ND
	CBM	-52.2	-28.4	-18.2	-0.2	ND	ND	-63.4	-55.7
	CE	-56.7	-40.2	-46.7	2.7	ND	ND	ND	ND
Trigaloil glucósido ^a	BM	-80.2	635.8	395.9	577.4	-20.9	-28.8	-68.2	-27.3
	CBM	-88.1	-63.6	-48.5	-46.4	6.6	38.8	47.2	4.9

	CE	ND	ND	46.7	ND	ND	1107.0	1201.5	661.7
Etil galato	BM	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	CBM	ND	-92.3	-89.4	-82.9	-71.6	-76.4	-74.0	-80.9
	CE	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Metil digalato éster	BM	-82.4	-85.8	ND	-91.4	-75.2	-72.1	-59.9	-65.6
	CBM	-88.4	-79.4	-80.8	-86.2	-73.5	-38.1	-18.5	-82.0
	CE	ND	ND	ND	ND	741.9	791.6	1434.4	401.4
Hexa-galoil –glucósido	BM	ND	ND	ND	-99.3	-88.3	-97.7	-98.8	-98.9
	CBM	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	CE	ND	ND	ND	ND	-19.2	13.0	91.4	-56.53
Hepta-O-galoil-glucósido	BM	-98.5	-98.5	-98.0	-99.3	ND	ND	ND	ND
	CBM	-87.8	-95.4	-22.3	-86.8	-78.2	-54.7	-93.0	-96.0
	CE	ND	ND	ND	ND	-72.6	-50.4	-21.6	-80.9
Octa-O-galoil- glucósido	BM	ND	ND	ND	-92.3	ND	ND	ND	ND
	CBM	312.9	-97.9	-66.2	-86.6	-90.5	-80.3	-96.9	-98.3
	CE	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Mangiferina	BM	-92.6	-88.3	-90.3	-84.2	-32.0	-41.3	-55.1	-14.8
	CBM	20.7	-71.4	-64.8	-56.2	143.8	108.1	117.4	157.6
	CE	ND	ND	-49.0	ND	119.2	ND	ND	ND
Isomangiferina	BM	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	CBM	ND	-90.1	-82.5	-91.1	-88.2	-88.9	-90.1	-87.8
	CE	ND	ND	ND	ND	ND	161.1	135.7	121.4
Homomangiferina	BM	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	CBM	ND	-92.9	-92.2	-88.0	-91.0	-90.7	-88.7	-90.5

	CE	-65.3	-76.5	-59.6	-36.3	ND	ND	ND	ND
Quercetina-3-O-glucosido ^c	BM	-64.1	-56.9	ND	-85.2	-39.0	-49.7	-53.2	-70.9
	CBM	ND	204.7	147.0	411.4	1077.0	1095.3	1035.4	459.1
	CE	ND	ND	ND	ND	85.3	-20.0	148.5	11.2

Los resultados se presentan como el porcentaje de variación, considerando la concentración inicial en la muestra como el 100%. BL; lado basolateral del saco intestinal invertido; AP, lado apical del saco intestinal invertido; ND, no detectado; BM, bagazo de mango; CBM, confite adicionado con bagazo de mango; CE, confite adicionado con bagazo de mango y extrudido.

Dirección General de Bibliotecas UAQ

El contenido en el lado basolateral, representa los compuestos que logran pasar el epitelio intestinal antes de llegar al torrente sanguíneo (Domínguez-avila et al., 2017).

En el caso de los ácidos fenólicos simples como lo es el ácido clorogénico y gálico, los valores de porcentaje de variación son positivos para las tres muestras, siendo mayores para el CBM, seguido del CE y posteriormente el BM, esto sugiere que la absorción de estos compuestos es mejorada al hacer un cambio de matriz como lo es del BM al CBM, pero que el proceso de extrusión pudiera perjudicar indirectamente su absorción, siendo en la etapa gástrica donde estos disminuyeron su valor. Los compuestos hidrofóbicos como el ácido gálico o el clorogénico pueden transportarse fácilmente por transporte paracelular, es decir espacios estrechos que separan a los enterocitos vecinos por proteína llamadas claudinas, sin embargo su velocidad de penetración es baja (Domínguez-avila et al., 2017).

Por otra parte, para el caso de los galotaninos, el ácido digálico, si bien está siendo bioaccesible para las tres muestras, este sólo es absorbido cuando proviene del CBM; esto nos pudiera sugerir que el cambio de la matriz afecta positivamente su absorción, mientras que el proceso de extrusión lo hace susceptible a su hidrólisis en la etapa gástrica e intestinal, haciéndolo no absorbible.

Por otra parte el trigaloil glucosido, es más absorbido cuando proviene del BM presentando valores positivos el lado basolateral, no siendo así para el CBM, mientras que para el CE no se logró detectar; un comportamiento contrario se describió para el lado apical respecto a este compuesto. La absorción de este compuesto, procedente del BM, indica que al ser bioaccesible en la etapa gástrica e intestinal, este rápidamente es absorbible, mientras que su presencia en el lado apical para el CE sugiere una formación de este compuesto en la etapa intestinal procedente del galotaninos más complejos, como hexa y octa galoilglucosidos y no siendo el tiempo suficiente para ser absorbido. Esta aseveración podría ser

sustentada con el hecho de que hexa, octa galoil glucosido no están presentes o presentan valores negativos en la luz intestinal para el BM pero si para el CE.

Así bien, heptagaloil glucósido, está siendo absorbido mayoritariamente del CBM, seguido del BM y posteriormente del CE, indicando que la matriz alimentaria está influenciando positivamente en la absorción de este compuesto, mientras que el proceso de extrusión lo hace negativamente.

En el caso del quercetin glucosido, este fue absorbido mayoritariamente cuando provenía del CBM, siendo menor cuando proviene del BM y no siendo absorbido cuando proviene del CE; este comportamiento indica que una alta liberación del este compuesto, como es en el caso del BM, afecta negativamente la absorción del mismo, mientras que una liberación paulatina como en el CBM afecta positivamente su absorción y una liberación rápida, como lo es en el caso del CE no permite su absorción. En el intestino existen transportadores de eflujo como glicoproteína P (P-gp/MDRP1) o la proteína de resistencia a múltiples fármacos 1,2 (MRP1,2) que transporta flavononoides de regreso a la luz intestinal (Domínguez-Avila et al., 2017).

Compuestos glucosidados como lo es el quercetin glucósido y los galotánicos son compuestos que pueden traspasar el tejido epitelial por transportes activos y facilitados como lo es el co-transportados de sodio/ glucosa 1 de alta afinidad (SGLT1) ubicado en el lado apical del borde del cepillo membranas o transportadores de glucosa como el GLUT 2 y 5 (Domínguez-Avila et al., 2017; Velderrain-Rodríguez et al., 2014).

En el caso de la mangiferina, esta fue absorbida cuando provenía del BM y del CBM presentando valores positivos, mientras que fue menormente absorbida cuando esta provenía del CE, este comportamiento se debe a que el proceso de extrusión hace que este compuesto sea rápidamente bioaccesible en la etapa gástrica e intestinal, y esto a su vez, afecte su absorción; mientras que al no ser sometida al dicho proceso, su bioaccesibilidad es más lenta, hasta llegar a la luz intestinal y ser absorbida. Caso contrario ocurre para la homomangiferina, la cual es absorbida cuando proviene del CBM y del CE.

La manguiferina, una C-glucosil xantona, presenta diferentes isoformas, resistentes a hidrolisis acid, alcalinas y enzimáticas. Este compuesto ha sido reportado por tener efectos antiinflaatorios, reducción a la resistencia de insulina e incluso mitigar la hiperglicemia en modelos animales de diabetes (Benard & Chi, 2015).

Dirección General de Bibliotecas UAQ

VIII CONCLUSIONES

- El proceso de extrusión empleado no afecta el contenido de nutrientes entre los confites.
- El proceso de extrusión empleado pudiera reducir el contenido de compuestos polifenólicos hasta en un 50%, pero también liberarlos de la unión de la fibra dietaria, e integrarlos la nueva composición de los confites.
- La etapa gástrica presenta el mayor porcentaje de bioaccesibilidad de los polifenoles.
- La cinética de liberación en la etapa intestinal influye en la biotransformación, degradación y absorción de los compuestos polifenólicos.
- Un cambio de matriz alimentaria y el proceso de extrusión afectan la liberación, porcentaje de bioaccesibilidad, la biotransformación y absorción de los compuestos polifenólicos en diferentes niveles de la digestión gastrointestinal *in vitro*
- La capacidad antioxidante de las muestras está influenciada por los diferentes grupos de polifenoles evaluados.
- La permeabilidad de los compuestos polifenólicos pudiera estar siendo difusión pasiva, mientras que para las xantonas y flavonoides pudiera ser por transportadores activos.
- El flujo de los compuestos polifenólicos provenientes de las muestras evaluadas está siendo en su mayoría de eflujo.
- El BM es una fuente de ácidos fenólicos, galotaninos, ácidos fenólicos metilados, benzofenonas, xantonas y flavonoides.
- La hidrólisis de los galotaninos depende de la etapa de la digestión, la matriz alimentaria y la bioaccesibilidad de los mismos.
- La estructura química de los compuestos polifenólicos influencia su bioaccesibilidad y absorción.

IX BIBLIOGRAFÍA

- Acosta-estrada, B. A., Lazo-vélez, M. A., Nava-valdez, Y., Gutiérrez-uribe, J. A., & Serna-saldívar, S. O. (2014). Improvement of dietary fiber, ferulic acid and calcium contents in pan bread enriched with nejayote food additive from white maize (Zea). *Journal of Cereal Science*, 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2014.04.006>
- Ajila, C. M., & Prasada Rao, U. J. S. (2013). Mango peel dietary fibre: Composition and associated bound phenolics. *Journal of Functional Foods*, 5(1), 444–450. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2012.11.017>
- Alam, M. S., Kaur, M. J., Khaira, M. H., & Gupta, M. K. (n.d.). Critical Reviews in Food Science and Nutrition Extrusion and Extruded Products: Changes in Quality Attributes as Affected by Extrusion Process Parameters: A Review, (February 2015), 37–41. <https://doi.org/10.1080/10408398.2013.779568>
- Alberto, J., Tovar, J., S, S. G., Bertha, C., & Zamora-gasga, V. M. (2019). Original article In vitro gastrointestinal digestion of mango by-product snacks: Potential absorption of polyphenols and antioxidant capacity, 1–8. <https://doi.org/10.1111/ijfs.14224>
- Altan, A., McCarthy, K. L., & Maskan, M. (2009). Original article Effect of extrusion process on antioxidant activity, total phenolics and β -glucan content of extrudates developed from barley-fruit and vegetable by-products, 1263–1271. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2009.01956.x>
- Amaya-Cruz, D. M., Rodríguez-González, S., Pérez-Ramírez, I. F., Loarca-Piña, G., Amaya-Llano, S., Gallegos-Corona, M. A., & Reynoso-Camacho, R. (2015). Juice by-products as a source of dietary fibre and antioxidants and their effect on hepatic steatosis. *Journal of Functional Foods*, 17, 93–102. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.04.051>
- Artursson, P., Palm, K., & Luthman, K. (2001). Caco-2 monolayers in experimental and theoretical predictions of drug transport, 46, 27–43.
- Ayala-Zavala, J. F., Vega-Vega, V., Rosas-Domínguez, C., Palafox-Carlos, H., Villa-Rodríguez, J. A., Siddiqui, M. W., ... González-Aguilar, G. A. (2011).

- Agro-industrial potential of exotic fruit byproducts as a source of food additives. *Food Research International*, 44(7), 1866–1874. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.02.021>
- Balasundram, N., Sundram, K., & Samman, S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, 99(1), 191–203. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.07.042>
- Bautista-ortín, A. B., Cano-lechuga, M., Ruiz-garcía, Y., & Gómez-plaza, E. (2014). Interactions between grape skin cell wall material and commercial enological tannins . Practical implications, 152, 558–565. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.12.009>
- Beelders, T., Beer, D. De, Ferreira, D., Kidd, M., & Joubert, E. (2017). Thermal stability of the functional ingredients , glucosylated benzophenones and xanthenes of honeybush (*Cyclopia genistoides*), in an aqueous model solution. *Food Chemistry*, 233, 412–421. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.04.083>
- Bejrappa, P., Surassmo, S., Choi, M., Nakagawa, K., & Min, S. (2011). Studies on the role of gelatin as a cryo- and lyo-protectant in the stability of capsicum oleoresin nanocapsules in gelatin matrix. *Journal of Food Engineering*, 105(2), 320–331. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.02.042>
- Benard, O., & Chi, Y. (2015). Medicinal Properties of Mangiferin , Structural Features , Derivative Synthesis , Pharmacokinetics and Biological Activities, 582–594.
- Berardini, N., Carle, R., & Schieber, A. (2004). Characterization of gallotannins and benzophenone derivatives from mango (*Mangifera indica* L . cv . ‘ Tommy Atkins ’) peels , pulp and kernels by high-performance liquid chromatography / electrospray ionization mass spectrometry, 2208–2216. <https://doi.org/10.1002/rcm.1611>
- Blancas-Benitez, F. J., Mercado-Mercado, G., Quirós-Sauceda, A. E., Montalvo-González, E., González-Aguilar, G. A., & Sáyago-Ayerdi, S. G. (2015).

- Bioaccessibility of polyphenols associated with dietary fiber and in vitro kinetics release of polyphenols in Mexican 'Ataulfo' mango (*Mangifera indica* L.) by-products. *Food Funct.*, 6(3), 859–868. <https://doi.org/10.1039/C4FO00982G>
- Bravo, L. (1998). Polyphenols: Chemistry, Dietary Sources, Metabolism, and Nutritional Significance. *Nutrition Reviews*, 56(11), 317–333. <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.1998.tb01670.x>
- Burton-Freeman, B. M., Sandhu, A. K., & Edirisinghe, I. (2017). Mangos and their bioactive components: adding variety to the fruit plate for health. *Food Funct.* <https://doi.org/10.1039/C7FO00190H>
- Campos-Vega, R., Vázquez-Sánchez, K., López-Barrera, D., Loarca-Piña, G., Mendoza-Díaz, S., & Oomah, B. D. (2015). Simulated gastrointestinal digestion and in vitro colonic fermentation of spent coffee (*Coffea arabica* L.): Bioaccessibility and intestinal permeability. *Food Research International*, 77(February 2016), 156–161. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.07.024>
- Chávez, D. W. H., Ascheri, J. L. R., Carvalho, C. W. P., Godoy, R. L. O., & Pacheco, S. (2017). Sorghum and roasted coffee blends as a novel extruded product: Bioactive compounds and antioxidant capacity, 29, 93–103. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2016.12.012>
- Dalbhat, C. G., Mahato, D. K., & Mishra, H. N. (2019). Trends in Food Science & Technology Effect of extrusion processing on physicochemical, functional and nutritional characteristics of rice and rice-based products: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 85(January), 226–240. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.01.001>
- Derese, S., Guantai, E. M., Souaibou, Y., & Kuete, V. (2017). *Mangifera indica* L. (Anacardiaceae). *Medicinal Spices and Vegetables from Africa*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809286-6/00021-2>
- Domínguez-avila, J. A., Wall-medrano, A., Velderrain-rodríguez, G. R., Chen, C. O., Salazar-lópez, N. J., & Robles-sánchez, M. (2017). Function. <https://doi.org/10.1039/c6fo01475e>

- Dorta, E., González, M., Lobo, M. G., Sánchez-moreno, C., & Ancos, B. De. (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, *57*, 51–60. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.01.012>
- Enadis, N. I. N., Ang, L. A. N. E. N. W., Simidou, M. A. T., & Hang, H. O. N. G. U. Z. (2004). Estimation of Scavenging Activity of Phenolic Compounds Using the ABTS • + Assay, 4669–4674. <https://doi.org/10.1021/jf0400056>
- Federici, F., Fava, F., Kalogerakis, N., & Mantzavinos, D. (2009). Valorisation of agro-industrial by-products, effluents and waste: Concept, opportunities and the case of olive mill waste waters. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, *84*(6), 895–900. <https://doi.org/10.1002/jctb.2165>
- Fukumoto, L. R., & Mazza, G. (2000). Assessing antioxidant and prooxidant activities of phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *48*(8), 3597–3604. <https://doi.org/10.1021/jf000220w>
- González-Aguilar, G. A., Blancas-Benítez, F. J., & Sáyago-Ayerdi, S. G. (2017). Polyphenols associated with dietary fibers in plant foods: molecular interactions and bioaccessibility. *Current Opinion in Food Science*, *13*, 84–88. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2017.03.004>
- Grundy, M. M. L., Edwards, C. H., Mackie, A. R., Gidley, M. J., Butterworth, P. J., & Ellis, P. R. (2016). Re-evaluation of the mechanisms of dietary fibre and implications for macronutrient bioaccessibility, digestion and postprandial metabolism. *British Journal of Nutrition*, *116*(5), 816–833. <https://doi.org/10.1017/S0007114516002610>
- Gutierrez-orozco, F., & Failla, M. L. (2014). Biological Activities and Bioavailability of Mangosteen Xanthonenes: A Critical Review of the Current Evidence, (August 2013). <https://doi.org/10.3390/nu5083163>
- Hernández-Navarro, F. (2015). *Elaboración y evaluación de un dulce enriquecido con fibra dietética presente en el bagazo de mango (Mangifera indica L.)*.
- Herrera-Cazares, L. A., Hernandez-Navarro, F., Ramirez-Jimenez, A. K., Campos-

- Vega, R., Reyes-Vega, M. de la L., Loarca-Pina, G., ... Gaytan-Martinez, M. (2017). Mango-bagasse functional-confectionery: vehicle for enhancing bioaccessibility and permeability of phenolic compounds. *Food & Function*, 8(11), 3906–3916. <https://doi.org/10.1039/C7FO00873B>
- Herrera-Cazares, L. A., Hernández-Navarro, F., Ramírez-Jiménez, A. K., Campos-Vega, R., Reyes-Vega, M. de la L., Loarca-Piña, G., ... Gaytán-Martínez, M. (2017). Mango-bagasse functional-confectionery: vehicle for enhancing bioaccessibility and permeability of phenolic compounds. *Food Funct.* <https://doi.org/10.1039/C7FO00873B>
- Herrera-cazares, L. A., Ramírez-jiménez, A. K., Wall-medrano, A., Campos-vega, R., Loarca-piña, G., Reyes-vega, M. L., ... Gaytán-martínez, M. (2019). Untargeted metabolomic evaluation of mango bagasse and mango bagasse based confection under in vitro simulated colonic fermentation, 54(January), 271–280. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.01.032>
- Hollman, P. C. H., Gaag, M. V.D., Mengelers, M. J. B., Van Trijp, J. M. P., De Vries, J. H. M., & Katan, M. B. (1996). Absorption and disposition kinetics of the dietary antioxidant quercetin in man. *Free Radical Biology and Medicine*, 21(5), 703–707. [https://doi.org/10.1016/0891-5849\(96\)00129-3](https://doi.org/10.1016/0891-5849(96)00129-3)
- Hubatsch, I., Ragnarsson, E. G. E., & Artursson, P. (2007). Determination of drug permeability and prediction of drug absorption in Caco-2 monolayers, 2(9), 2111–2119. <https://doi.org/10.1038/nprot.2007.303>
- Iao, J. I. X., Ao, H. U. I. C., Ang, Y. U. W., Hao, J. I. Z., & Ei, X. I. W. (2009). Glycosylation of Dietary Flavonoids Decreases the Affinities for Plasma Protein, 6642–6648. <https://doi.org/10.1021/jf901456u>
- Jahurul, M. H. A., Zaidul, I. S. M., Ghafoor, K., Al-Juhaimi, F. Y., Nyam, K. L., Norulaini, N. A. N., ... Mohd Omar, A. K. (2015). Mango (*Mangifera indica* L.) by-products and their valuable components: A review. *Food Chemistry*, 183, 173–180. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.03.046>
- Jakobek, L. (2015). Interactions of polyphenols with carbohydrates , lipids and proteins. *FOOD CHEMISTRY*, 175, 556–567.

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.12.013>

- Karabin, M., Hudcova, T., Jelinek, L., & Dostalek, P. (2014). *Biotransformations and biological activities of hop flavonoids*. *Biotechnology Advances* (Vol. 33). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2015.02.009>
- Kirchner, U., Degenhardt, K., Raffler, G., & Nelson, M. (2012). Determination of Vitamin A (Retinol) in Infant Formula and Adult Nutritionals by LC 2011.15. *Journal of AOAC International*, 95(4), 933–936. <https://doi.org/10.5740/jaoacint.CS2011>
- Konrade, D., & Klava, D. (2017). Total Content of Phenolics and Antioxidant Activity in Crispbreads with Plant By-product addition, 38(333). <https://doi.org/10.1515/plua-2017-0009>
- Kulvinskien, I., & Stasiulaitien, I. (2019). Cytoprotective Effects of Mangiferin and Z-Ligustilide in PAH-Exposed Human Airway, 1–15. <https://doi.org/10.3390/nu11020218>
- L, A. M. M., Bars, A. F., Alicia, P. C., Tovar, J., & Sonia, G. S. (2019). In Vitro Gastrointestinal Digestion and Colonic, 1–18.
- Laulloo, S. J., Bhowon, M. G., Soyfoo, S., & Chua, L. S. (2018). Nutritional and Biological Evaluation of Leaves of *Mangifera indica* from Mauritius, 2018.
- Lee, W. J., & Hase, K. (2014). Gut microbiota-generated metabolites in animal health and disease. *Nature Chemical Biology*, 10(6), 416–424. <https://doi.org/10.1038/nchembio.1535>
- Lifford, M. I. N. C., Ohnston, K. E. L. J., Night, S. U. K., & Uhnert, N. I. K. (2003). Hierarchical Scheme for LC-MS n Identification of Chlorogenic Acids, (1), 2900–2911. <https://doi.org/10.1021/jf026187q>
- López-Varela, S., González-Gross, M., & Marcos, A. (2002). Functional foods and the immune system: A review. *European Journal of Clinical Nutrition*, 56, S29–S33. <https://doi.org/10.1038/sj.ejcn.1601481>
- Lucas-gonzalez, R., Navarro-coves, S., Pérez-álvarez, J. A., Viuda-martos, M., Fernández-lópez, J., & Mu, L. A. (2016). Assessment of polyphenolic profile stability and changes in the antioxidant potential of maqui berry (*Aristotelia*

- chilensis (Molina) Stuntz) during in vitro gastrointestinal digestion, *94*, 774–782. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.09.057>
- Mandalari, G., Vardakou, M., Faulks, R., Bisignano, C., Martorana, M., Smeriglio, A., & Trombetta, D. (2016). Food Matrix Effects of Polyphenol Bioaccessibility from Almond Skin during Simulated Human Digestion. <https://doi.org/10.3390/nu8090568>
- Mar, A., Ana, L., Segura-carretero, A., & Fern, 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), 1072–1084. <https://doi.org/10.1002/elps.201500439>
- Martins, Z. E., Pinho, O., & Ferreira, I. M. P. L. V. O. (2017). Food industry by-products used as functional ingredients of bakery products. *Trends in Food Science and Technology*, *67*, 106–128. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.07.003>
- Mojica, L. (2018). Fermented non-digestible fraction from combined nixtamalized corn (*Zea mays* L.) / cooked common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) chips modulate anti-inflammatory markers on RAW 264.7 macrophages. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.03.096>
- Moldes, A. B., Vecino, X., & Cruz, J. M. (2016). *Nutraceuticals and Food Additives. Current Developments in Biotechnology and Bioengineering: Food and Beverages Industry*. Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63666-9.00006-6>
- Mosele, J. I., Macià, A., Romero, M. P., & Motilva, M. J. (2016). Stability and metabolism of *Arbutus unedo* bioactive compounds (phenolics and antioxidants) under in vitro digestion and colonic fermentation. *Food Chemistry*, *201*, 120–130. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.01.076>
- Murillo, O. M. (2014). Ficha técnica de industrialización de Mango (*Mangifera indica* L.). *Dirección de Mercadeo y Agroindustria Area Desarrollo de Producto*, 1–4. Retrieved from http://www.cnp.go.cr/biblioteca/fichas/Mango_FTP.pdf

- Nunes, M. A., Pimentel, F. B., Costa, A. S. G., Alves, R. C., & Oliveira, M. B. P. P. (2016). Olive by-products for functional and food applications: Challenging opportunities to face environmental constraints. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 35, 139–148. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2016.04.016>
- Pacheco-ordaz, R., & Antunes-ricardo, M. (n.d.). Intestinal Permeability and Cellular Antioxidant Activity of Phenolic Compounds from Mango (*Mangifera indica* cv . Ataulfo) Peels. <https://doi.org/10.3390/ijms19020514>
- 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(1), 105–111. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.04.103>
- Review, G. A., Nayak, B., Liu, R. H., Tang, J., Nayak, B., Liu, R. U. I. H. A. I., & Tang, J. (2015). Effect of Processing on Phenolic Antioxidants of Effect of Processing on Phenolic Antioxidants of Fruits , Vegetables , and Grains — A Review, 8398(August 2017). <https://doi.org/10.1080/10408398.2011.654142>
- Rice-Evans, C., Miller, N., & Paganga, G. (1997). Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in Plant Science*, 2(4), 152–159. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(97\)01018-2](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(97)01018-2)
- Robards, K., Prenzler, P. D., Tucker, G., Swatsitang, P., & Glover, W. (1999). Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food Chemistry*, 66(4), 401–436. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(99\)00093-X](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(99)00093-X)
- Roberfroid, M. (2000). Prebiotics and probiotics: are they functional foods? *Am J Clin Nutr*, 71(March), 1682–1687.
- SAGARPA. (2017). *Agrícola Nacional*, 1, 28.
- San, J. A., Ve, R., Quiro, A. E., Domí, J. A., & Gonza, G. A. (2019). Effects of ripening on the in vitro antioxidant capacity and bioaccessibility of mango cv . ‘ Ataulfo ’ phenolics, (46). <https://doi.org/10.1007/s13197-019-03685-x>
- Saura-Calixto, F. (2011). Dietary fiber as a carrier of dietary antioxidants: An

- essential physiological function. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(1), 43–49. <https://doi.org/10.1021/jf1036596>
- Sáyago-ayerdi, S. G., Moreno-hernández, C. L., Montalvo-gonzález, E., García-magaña, M. L., Oca, M. M. De, Lluís, J., & Pérez-jiménez, J. (2013). Mexican ‘ Ataulfo ’ mango (*Mangifera indica* L) as a source of hydrolyzable tannins . Analysis by MALDI-TOF / TOF MS, 51, 188–194. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.11.034>
- Sáyago-Ayerdi, S. G., Zamora-Gasga, V. M., & Venema, K. (2017). Prebiotic effect of predigested mango peel on gut microbiota assessed in a dynamic in vitro model of the human colon (TIM-2). *Food Research International*. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.12.024>
- Shahidi, F., & Yeo, J. (2016). Insoluble-Bound Phenolics in Food. <https://doi.org/10.3390/molecules21091216>
- Singh, S., Gamlath, S., & Wakeling, L. (2007). Original article Nutritional aspects of food extrusion: a review, 916–929. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2006.01309.x>
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.05.053>
- Stepke, F. L. Pautas Éticas Internacionales (2002). Retrieved from <http://www.bioética.ops-oms.org>
- Tan, H. P., Ling, S. K., & Chuah, C. H. (2011). Characterisation of Galloylated Cyanogenic Glucosides and Hydrolysable Tannins from Leaves of *Phyllagathis rotundifolia* by LC - ESI - MS / MS Hooi Poay Tan , a , b * Sui Kiong Ling b and Cheng Hock Chuah a, (December 2010), 516–525. <https://doi.org/10.1002/pca.1312>
- Vazquez-olivo, G., Antunes-ricardo, M., Gutiérrez-uribe, J. A., Osuna-enciso, T., León-félix, J., & Basilio, J. (2019). Cellular antioxidant activity and in vitro intestinal permeability of phenolic compounds from four varieties of mango

- bark (*Mangifera indica* L .), (September 2018).
<https://doi.org/10.1002/jsfa.9567>
- Velderrain-Rodríguez, G. R., Palafox-Carlos, H., Wall-Medrano, A., Ayala-Zavala, J. F., Chen, C.-Y. O., Robles-Sánchez, M., ... González-Aguilar, G. A. (2014). Phenolic compounds: their journey after intake. *Food Funct.*, 5(2), 189–197.
<https://doi.org/10.1039/C3FO60361J>
- Wall-Medrano, A., Olivas-Aguirre, F. J., Velderrain-Rodríguez, G. R., González-Aguilar, A., De La Rosa, L. A., López-Díaz, J. A., & Álvarez-Parrilla, E. (2015). El mango: aspectos agroindustriales, valor nutricional/funcional y efectos en la salud. *Nutr Hosp.Nutr Hosp*, 3131(1), 67–7567.
<https://doi.org/10.3305/nh.2015.31.1.7701>
- Wang, T., He, F., & Chen, G. (2014). Improving bioaccessibility and bioavailability of phenolic compounds in cereal grains through processing technologies : A concise review. *JOURNAL OF FUNCTIONAL FOODS*, 1–11.
<https://doi.org/10.1016/j.jff.2014.01.033>
- Wang, Y., Liu, J., Chen, F., & Zhao, G. (2013). E ff ects of Molecular Structure of Polyphenols on Their Noncovalent Interactions with Oat β - glucan.
- Zavala, L. N. D. F. (2018). Universidad Autónoma de Querétaro.

ANEXO I

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

Posgrado de Alimentos, Facultad de Química

“Carta consentimiento para participar en el proyecto de investigación”

Título del protocolo:

“Determinación de la biotransformación de compuestos fenólicos de un confite adicionado con bagazo de mango al ser consumido”

Investigador principal: Dra. Marcela Gaytan Martínez

Sede donde se realizará el estudio: Posgrado de Alimentos, Facultad de Química, Universidad Autónoma de Querétaro.

INVITACION

A usted se le está invitando a participar en este estudio de investigación. Antes de decidir si participa o no, debe conocer y comprender cada uno de los siguientes apartados. Este proceso se conoce como *consentimiento informado*. Siéntase con absoluta libertad para preguntar sobre cualquier aspecto que le ayude a aclarar sus dudas al respecto.

Una vez que haya comprendido el estudio y si usted desea participar, entonces se le pedirá que firme esta forma de consentimiento, de la cual se le entregará una copia firmada y fechada.

1. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

Los compuestos fenólicos se han reportado como los responsables de generar un beneficio a la salud al consumir frutos ricos en este, de tal manera que promueve una vida más saludable. Para dilucidar el mecanismo de acción de estos compuestos es importante comprender como son transformados durante la

digestión gastrointestinal, ya que en base a su forma química pueden o no ser aprovechados y cumplir su función en las células de destino, o ser desechados por el organismo.

2. OBJETIVO DEL ESTUDIO

Desarrollar un confite adicionado con bagazo de mango que sea rico en compuestos fenólicos altamente biodisponible.

3. BENEFICIOS DEL ESTUDIO

Este estudio contribuirá a que en un futuro se tenga la información científica necesaria para sustentar la utilización de un material rico en compuestos asociados con beneficios en la salud, y que actualmente no se utiliza. Lo anterior permitirá utilizar de manera más eficiente los alimentos generados, dando la oportunidad de tener productos más saludables.

4. PROCEDIMIENTOS DEL ESTUDIO

En caso de aceptar participar en el estudio usted seguirá el siguiente procedimiento:

1. Se aplicará un breve cuestionario para determinar su historia clínica y sobre sus hábitos de alimentación.
2. Usted tendrá que asistir el día y hora señalados, y haber consumido su último alimento al menos 90 minutos antes del inicio del ensayo. Además, cepillarse los dientes, sin pasta dental o cualquier otro producto para el aseo bucal, solamente con agua natural. Antes de iniciar el ensayo, se le pedirá enjuagarse la boca con agua. Se le solicitará que mastique 1 gramo de muestra (Bagazo de mango o gomita adicionada con bagazo de mango) 15 veces, durante 15 segundos, descargando el contenido en un vaso. Inmediatamente después, se enjuagará la boca por 60 segundos con otros 5 mL de agua destilada, depositando el líquido en el vaso anterior. Y, pasada media hora, repetirá el mismo procedimiento. Esto se repetirá en dos días diferentes.

5. RIESGOS ASOCIADOS CON EL ESTUDIO

Este estudio consta de 1 sola fase en la que masticará bagazo de mango o de gomita adicionada con bagazo de mango. De no expresar alergia o intolerancias previas a este producto, este procedimiento no implica ningún riesgo para usted; el café usado es apto para consumo humano ya que procede de los granos de café tostado, que se comercializan habitualmente.

En caso de que usted desarrolle algún efecto adverso secundario o requiera otro tipo de atención, ésta se le brindará en los términos del apartado 6.

6. ACLARACIONES

- Su decisión de participar en el estudio es completamente voluntaria.
- No habrá ninguna consecuencia desfavorable para usted, en caso de no aceptar la invitación.
- Si decide participar en el estudio puede retirarse en el momento que lo desee, -aun cuando el investigador responsable no se lo solicite-, pudiendo informar o no, las razones de su decisión, la cual será respetada en su integridad.
- No tendrá que hacer gasto alguno durante el estudio.
- No recibirá pago por su participación.
- En el transcurso del estudio usted podrá solicitar información actualizada sobre el mismo, al investigador responsable.
- La información obtenida en este estudio, utilizada para la identificación de cada participante, será mantenida con estricta confidencialidad por el grupo de investigadores. Esta información es de carácter confidencial. El comité de ética que revisó este proyecto, los colaboradores del estudio y las agencias regulatorias también podrán tener acceso a esta información. La UAQ solo proporcionará información que no lo identificará personalmente.

- En caso de que usted desarrolle algún efecto adverso secundario no previsto, se le proporcionará el cuidado médico apropiado, siempre que estos efectos sean consecuencia de su participación en el estudio, previamente valorado por el médico.

7. INFORMACIÓN DE CONTACTO

Si tiene alguna pregunta acerca de su participación o desea la opinión de otra persona fuera del estudio, usted puede consultar al médico de su confianza.

En caso de que tenga cualquier pregunta acerca del proyecto o en caso de una emergencia, llame al número 4424672291, con la IQAI. Luz Abril Herrera Cazares. Además usted podrá ponerse en contacto con el Comité de Bioética de la Universidad Autónoma de Querétaro, de la Facultad de Química en el teléfono: Tel. (442) 192-1200 ext. 5323 y 5351.

8. CONSENTIMIENTO INFORMADO

Yo, _____ he leído y comprendido la información anterior y mis preguntas han sido respondidas de manera satisfactoria. He sido informado y entiendo que los datos obtenidos en el estudio pueden ser publicados o difundidos con fines científicos. Convengo en participar en este estudio de investigación. Recibiré una copia firmada y fechada de esta forma de consentimiento.

Firma del participante

Fecha de la firma

He explicado al Sr(a). _____ la naturaleza y los propósitos de la investigación; le he explicado acerca de los riesgos y

beneficios que implica su participación. He contestado a las preguntas en la medida de lo posible y he preguntado si tiene alguna duda. Acepto que he leído y conozco la normatividad correspondiente para realizar investigación con seres humanos y me apego a ella.

Una vez concluida la sesión de preguntas y respuestas, se procedió a firmar el presente documento.

Firma del investigador

Fecha

9. CARTA DE REVOCACIÓN DEL CONSENTIMIENTO

Título del protocolo:

Investigador principal:

Sede donde se realizará el estudio:

Nombre del participante: _____

Por este conducto deseo informar mi decisión de retirarme de este protocolo de investigación por las siguientes razones: (Opcional)

Nombre del participante

Firma del participante o del padre o tutor

Fecha de la firma