REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

Universidad Católica de Santa María

Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas

Escuela Profesional de Ingeniería Biotecnológica

Optimización de los parámetros de extracción asistida por ultrasonido de mangiferina a partir de residuos agrícolas de mango (*Mangifera indica* L.)

Tesis presentada por la Bachiller:

Espinoza Rodriguez, Elena Sofia

para optar por Título Profesional de Ingeniero Biotecnólogo

ORCID:0000-0002-4439-1416

Asesor:

Dr. Jiménez Pacheco, Hugo Guillermo

ORCID: 0009-0001-5177-1126

Arequipa - Perú

2025

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

UCSM-ERP

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

INGENIERIA BIOTECNOLOGICA

TITULACIÓN CON TESIS

DICTAMEN APROBACIÓN DE BORRADOR

Arequipa, 20 de Junio del 2024

Dictamen: 006950-C-EPIB-2024

Visto el borrador del expediente 006950, presentado por:

2017221852 - ESPINOZA RODRIGUEZ ELENA SOFIA

Titulado:

OPTIMIZACIÓN DE LOS PARÁMETROS DE EXTRACCIÓN ASISTIDA POR ULTRASONIDO DE MANGIFERINA A PARTIR DE RESIDUOS AGRÍCOLAS DE MANGO (MANGIFERA INDICA L.)

Nuestro dictamen es:

APROBADO

Titulo Profesional/Titulo de Segunda Especialidad/Grado Académico a optar:

INGENIERO BIOTECNOLOGO

29440909 - MOLINA RODRIGUEZ FREDY NICOLAS
DICTAMINADOR

43668681 - PAREDES FUENTES JULITZA LINDSEY
DICTAMINADOR

45498291 - ALVARADO QUIROZ KENY DAVI
DICTAMINADOR

Optimización de los parámetros de extracción asistida por ultrasonido de mangiferina a partir de residuos agrícolas de mango (Mangifera indica L.)

INFORME DE ORIGINALIDAD

12%	11%	3%	3%
INDICE DE SIMILITUD	FUENTES DE INTERNET	PUBLICACIONES	TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	hdl.handle.net Fuente de Internet	1%
2	ri.uaemex.mx Fuente de Internet	1%
3	repositorio.ucsm.edu.pe Fuente de Internet	1%
4	repositorio.uta.edu.ec Fuente de Internet	1%
5	www.coursehero.com Fuente de Internet	<1%
6	1library.co Fuente de Internet	<1%
7	accesoabierto.uh.cu Fuente de Internet	<1%
8	repositorio.unal.edu.co Fuente de Internet	<1%
9	Submitted to Universidad de Cádiz Trabajo del estudiante	<1%
10	repositorioacademico.upc.edu.pe Fuente de Internet	<1%
11	bibliotecadigital.udea.edu.co Fuente de Internet	<1%

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

DEDICATORIA

A Dios, por acompañarme
y ser siempre mi fortaleza, también por permitirme cumplir mis sueños.

A mis papás que siempre me impulsaron a seguir adelante y esforzarme por mis sueños.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mis papás, por todo el apoyo brindado.

Agradezco al instituto Innovergy por haberme dado la oportunidad y todo su apoyo en el camino para culminar este trabajo. En especial a Stephanie, Naysha y el doctor Hugo.

Este trabajo fue apoyado y financiado por la Universidad Católica de Santa María – Vicerrectorado de Investigación Arequipa-Perú; Instituto de Investigación e Innovación en Energías Renovables y Medio Ambiente – INNOVERGY bajo el número de resolución de proyectos de Investigación interna 27403-R-2020

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

RESUMEN

El presente trabajo presenta la optimización del proceso de extracción asistida por ultrasonido para la obtención de mangiferina en residuos agrícolas de la región de Majes. La mangiferina es un compuesto bioactivo presente en las hojas del mango, su extracción suele realizarse por métodos convencionales como el de Soxhlet, pero este requiere no solo de tiempo, y energía sino también mayor cantidad de solventes. Es por eso que se estudia un método verde de extracción, en el cual tomamos como variables la temperatura, tiempo y concentración de etanol para poder optimizar el proceso y poder así obtener una mayor cantidad de mangiferina. Para esto se trabajó con temperaturas de 20˚C, 50˚C y 80˚C; tiempos de 5, 15 y 25 minutos y una concentración de etanol al 20%, 50% y 80%. Se realizo una optimización con ayuda del programa Statgraphics, utilizando un diseño Box-Behnken, donde se obtuvo como óptimos una temperatura de 80˚C, un tiempo de 24 minutos y una concentración al 80%. Para la cuantificación de la mangiferina se utilizó un cromatógrafo iónico, que tiene una función de HPLC donde se obtuvo 27.79 mg/g de mangiferina.

Palabras clave: mangiferina, extracción, optimización.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

ABSTRACT

The present work presents the optimization of the ultrasound-assisted extraction process to obtain mangiferin from agricultural waste of Majes region. Mangiferin is a bioactive compound present in the leaves of mango, its extraction is usually done by conventional methods such as Soxhlet, but this requires not only time, and energy but also more solvents. That is why a green method of extraction is studied, in which we take as variables the temperature, time and concentration of ethanol in order to optimize the process and thus be able to obtain a greater amount of mangiferin. For this, we worked with temperatures of 20 ° C, 50 ° C and 80 ° C; times of 5, 15 and 25 minutes and a concentration of ethanol at 20%, 50% and 80%. An optimization was carried out with the help of the Statgraphics software, using a Box-Behnken design, where a temperature of 80 ° C, a time of 24 minutes and a concentration of 80% were obtained as optimal. For the quantification of mangiferin an ion chromatograph was used, which has an HPLC function where 27.79 mg/g of mangiferin was obtained.

Key words: mangiferina, extraction, optimization.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

ÍNDICE

DEDICATORIA .....

AGRADECIMIENTOS .....

RESUMEN .....

ABSTRACT .....

ÍNDICE DE TABLAS .....

ÍNDICE DE FIGURAS .....

ÍNDICE DE ABREVIATURAS .....

INTRODUCCIÓN **1**

HIPÓTESIS **2**

OBJETIVO GENERAL **2**

OBJETIVOS ESPECIFICOS **2**

TABLA DE VARIABLES E INDICADORES **2**

CAPÍTULO I **3**

1. MARCO TEÓRICO **3**

1.1. Mango **3**

1.1.1. Botánica del mango 3

1.1.2. Componentes del mango 4

1.1.3. Macronutrientes 5

1.1.4. Ácidos Orgánicos 7

1.1.5. Micronutrientes 7

1.1.6. Compuestos fitoquímicos 9

1.1.7. Compuestos fenólicos 10

1.1.8. Importancia económica del mango 11

1.1.9. Mango en el Perú 13

1.1.10. Residuos del mango 15

1.2. Mangiferina **15**

1.2.1. Características y propiedades 15

1.2.2. Aplicaciones 16

1.3. Métodos de extracción **17**

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

1.3.1. Extracción solido-liquido 17
1.3.2. Ultrasonido 18
1.3.3. Microondas 18
1.4. Métodos de cuantificación e identificación **19**
1.4.1. Cromatografía liquida 19
1.4.2. Espectroscopia infrarroja – FTIR 21
1.5. Tecnologías emergentes y desafíos del escalado industrial **22**
CAPÍTULO II **24**
2. MATERIALES Y MÉTODOS **24**
2.1. Materiales **24**
2.1.1. Material biológico 24
2.1.2. Reactivos 24
2.1.3. Material de vidrio 24
2.1.4. Aparatos y equipos 24
2.1.5. Ambientes de trabajo 25
2.2. Métodos **25**
2.2.1. Recolección del material 25
2.2.2. Pretratamiento de la muestra 25
2.2.3. Tratamiento de la muestra 25
2.2.4. Extracción de la muestra 26
2.2.5. Optimización 27
2.2.6. Cuantificación 28
2.2.7. Análisis estadístico 31
2.2.8. Ensayo IR 32
CAPÍTULO III **33**
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN **33**
3.1. Recolección del material **33**
3.2. Tratamiento de la muestra **34**
3.3. Extracción de la muestra **34**
3.4. Efecto de la concentración **36**
3.5. Efecto de la temperatura **37**
3.6. Efecto del tiempo **38**

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

3.7. Cuantificación 39

3.8. Optimización 41

3.9. Optimizado 46

3.10. Ensayo FT-IR 50

CAPITULO IV 53

4.1 CONCLUSIONES 53

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 54

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Cuadro de variables....2
Tabla 2. Clasificación del mango....3
Tabla 3: Componentes del mango....5
Tabla 4: Composición de aminoácidos en porciones comestibles del mango....6
Tabla 5. Vitaminas presentes en la parte comestible del mango....8
Tabla 6. Minerales presentes en las partes comestibles del mango....9
Tabla 7. Compuestos fitoquímicos del mango....10
Tabla 8. Variedades cultivadas en el Perú. 14
Tabla 9. Efecto protector de la mangiferina....17
Tabla 10. Combinación de los experimentos (Diseño experimental) 26
Tabla 11. Componentes de la solución en 20 mL. 26
Tabla 12. Variables del proceso 27
Tabla 13. Diseño experimental Box-Benhken 27
Tabla 14. Experimentación 1 29
Tabla 15. Experimentación 2 30
Tabla 16. Experimentación 3 31
Tabla 17. Valores óptimos encontrados 32
Tabla 18. Niveles de las variables de estudio 35
Tabla 19. Combinación de las variables de estudio 41
Tabla 20. Variables independientes y niveles usados para el modelo BBD. 42
Tabla 21. Análisis de varianza 43
Tabla 22. Niveles optimizados de las variables estudiadas....47

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructuras fenólicas predominantes en el mango.....11
Figura 2. Agregado global y volumen de exportaciones de frutas tropicales.....12
Figura 3. Mango y guayaba: cantidad de exportaciones por los países lideres (2017-2021) 13
Figura 4. Estructura química de la mangiferina (31).....15
Figura 5. Cosecha del mango en Arequipa.....33
Figura 6. Efectos del parámetro de etanol en la extracción de mangiferina.....36
Figura 7. Efecto del parámetro de la temperatura en la extracción de mangiferina. 37
Figura 8. Efecto del parámetro del tiempo en la extracción de mangiferina 38
Figura 9. Cromatograma del pico de Mangiferina mediante HPLC-RP.....39
Figura 10. Cromatograma de comparación de picos de Mangiferina mediante HPLC-RP.....40
Figura 11. Diagrama de Pareto. 44
Figura 12. Diagrama de efectos principales.....45
Figura 13. Gráficos de superficie de respuesta. Efecto de la temperatura, tiempo y porcentaje de etanol en la eficiencia de extracción de mangiferina. 46
Figura 14. Cromatogramas del pico de mangiferina con parámetros optimizados.....48
Figura 15. Resultados reportados por el cromatógrafo.....50
Figura 16. Estructura química de la mangiferina.....51
Figura 17. Espectro IF de mangiferina 52

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

ANOVA – Análisis de la varianza

APEM - Asociación Peruana de Productores y Exportadores de Mango

FAO – Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y Alimentación.

FTIR – Espectroscopia infrarroja de transformada de Fourier

HPLC - Cromatografía líquida de alta resolución.

IR – Infrarrojo

LC -MS – Cromatografía liquida y espectrometría de masa

MIDAGRI - Ministerio de Desarrollo Agrario y Riego.

MINAG – Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural

MIR – Infrarrojo medio

NIR – Infrarrojo cercano

NMR - Espectroscopia de resonancia nuclear

SIEA – Sistema Integrado de Estadísticas Agrarias

UV – Ultravioleta

VIS – Visible

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

INTRODUCCIÓN

El Perú es un país que se caracteriza por ser primario-exportador, debido a la diversificación productiva, sus diferentes climas y ecosistemas. Gracias a la agricultura moderna se tiene la capacidad de producir productos no originarios y a su vez exportarlos, como es el caso del mango (1). Posicionándonos dentro de los 10 exportadores de mango a nivel mundial según el censo realizado por el Ministerio de Desarrollo Agrario y Riego (MIDRAGRI) en los años 2020-2021, el cual se exporta mayormente como fruta fresca pero también como congelado, pulpa o en jugos (2). Este año a pesar de la pandemia el mercado alcanzó las 232 toneladas y se espera un crecimiento en los siguientes año. Aproximadamente del 30 al 60% del mango se desecha como residuo, sin contar que en el periodo de otoño las hojas que se generan y se eliminan tiene un impacto negativo en el ambiente. Sin embargo, estos son ricos en compuestos polifenólicos, carotenoides, entre otros, pero por la falta o desconocimiento de las tecnologías para recuperar esta clase de metabolitos secundarios, estos son utilizados para generar energía o como suplemento alimenticio para animales (3)

Uno de estos componentes bioactivos, es la mangiferina, la cual es similar al xantano, C-glucósido que tiene diversas aplicaciones en la industria farmacéutica, cosmética y alimentaria, gracias a la presencia de sus grupos aromáticos, esta tiene funciones cardioprotectoras, hepatoprotectoras, antidiabéticas, antitumorales, inmunomoduladoras, por mencionar algunas de ellas, lo cual lo vuelve de gran interés (4). Encontramos este bioactivo en las hojas del mango, y para su extracción se suele utilizar métodos convencionales como el de maceración o Soxhlet, pero estas no solo consumen mucho tiempo sino también gran cantidad de solvente (5). Por lo que para cumplir con los objetivos de utilizar tecnologías verdes se buscan nuevos métodos de extracción, como el de microondas, extracción asistida por un homogenizador y la extracción asistida por ultrasonido. Esta última utiliza la cavitación para romper las células y poder liberar el compuesto al solvente (6). A pesar de que hay avances significativos aún no se logra igualar el rendimiento obtenido por los métodos convencionales por lo que se requiere optimizar las variables del proceso con el objetivo de extraer la mayor cantidad de mangiferina posible, las variables que se evaluaran en el siguiente trabajo serán el tiempo, temperatura y proporción del solvente utilizando un diseño Box-Behnken y se cuantificará la cantidad de mangiferina utilizando un cromatógrafo iónico, en él tiene la función de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM
UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

HIPÓTESIS

Las extracciones convencionales utilizan demasiada cantidad de solvente, tiempo y energía, sin embargo, son las que alcanzan un mayor rendimiento en la extracción de mangiferina. El ultrasonido al ser una extracción no convencional ofrece una opción verde, pero con capacidad de mejora.

Dado que la extracción de mangiferina se ve afectada por la temperatura, tiempo de extracción y cantidad de solvente es probable que modificando las condiciones de trabajo se extraiga una mayor cantidad de esta, optimizando así el proceso.

OBJETIVO GENERAL

Optimizar la extracción de mangiferina por el método asistido de ultrasonido a partir de residuos agrícolas de mango (*Mangifera indica L.*)

OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Determinar las variables operativas y niveles del proceso de extracción por ultrasonido para la extracción de mangiferina a partir de residuos agrícolas.
- Ejecutar un diseño experimental de optimización para la extracción de mangiferina a partir de residuos agrícolas.
- Evaluar la interacción entre las variables operativas de ultrasonido y el rendimiento de mangiferina a partir de residuos agrícolas.

TABLA DE VARIABLES E INDICADORES

Tabla 1. Cuadro de variables.

Variables	**Variable**	**Indicadores**	**Unidades**
Independientes	Temperatura	Temperatura del proceso	˚C
	Tiempo	Tiempo de sonicación	Min
	Concentración del solvente	Proporción líquido/líquido	%
Dependientes	Concentración de mangiferina	Cuantificación del extracto	mg/L

Fuente: Elaboración propia

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO

1.1. Mango

El mango (*Mangifera indica* L.*)* pertenece a la familia Anacardiaceae, que incluye numerosas especies de plantas venenosas, tiene un aroma y sabor delicioso, con un alto valor nutricional. Es originario de India donde viene siendo cultivado por más de 400 años. Es comercialmente una fruta tropical importante, siendo la más importante en Asia, donde lo cultivan comercialmente en más de 87 países (7). Los principales productores a nivel mundial son Asia, India, China, Indonesia, México, Brasil y Perú (8). La producción de mango continúa siendo predominante en el siglo 21, alcanzando una cosecha de 51 millones de toneladas en el 2019. La fruta se divide en 3 partes principales: pulpa, cáscara y semilla. Siendo la pulpa la más consumida, mientras que la pepa y la cáscara suelen ser eliminadas (9). La pulpa del mango es fuente de una variedad de azucares reductores, aminoácidos, compuestos aromáticos y funcionales como pectina, vitaminas, antocianinas y polifenoles. Al ser una fuente rica en compuestos bioactivos, varios estudios han sido realizados para conocer las diferentes funciones que estos podrían tener dándole un valor agregado al fruto (10).

Tabla 2. Clasificación del mango.

Reino	**Planta**
Subreino	Tracheobionta – Planta vascular
Superdivision	Spermatophyta - Semillas
Division	Magnoliophyta - Flores
Clase	Magnoliopsida – Dicotiledonea
Subclase	Rosidae
Orden	Sapindales
Familia	Anacardiaceae – Familia Sumac
Genero	Mangifera
Especie	Mangifera indica L.
Nombre científico	Mangifera indica L.

Fuente: Yadav D. (10)

1.1.1. Botánica del mango

La palabra mango es originaria de la palabra ‘mangai’ del antiguo Tamil en el siglo 16. Gracias a evidencia molecular se cree que el mango proviene de la región noreste de Bangladesh e India.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

Pertenece a la familia Anacardiaceae, que está en su mayoría compuesto por frutas tropicales, además del mango podemos encontrar en esta familia al pistacho, robles, hidra venenosa, entre otros. Así mismo el árbol del mango se caracteriza por ser un árbol erecto, de 10 a 40 m de alto, con una copa simétrica, tupida y verde, los árboles que fueron domesticados por selección de semillas polinizadas muestran variación en su arquitectura (11). Las hojas son simples y se alternan, con el largo del peciolo estando en un rango de 1 a 12.5 cm. La morfología de las hojas varia considerablemente según el cultivar, estas pueden ser ovaladas, elongadas o lanceoladas con un largo de 12 a 38 cm y un ancho de 2 a 13 cm. Las hojas jóvenes tienen un color cobrizo, que cambia gradualmente a un verde claro y luego a un verde oscuro con el envejecimiento. Sus colores varían desde verde hasta un amarillo con rojo (12).

El árbol puede vivir por más de cien años y sus raíces son largas, vigorosas y abundantes. La fruta del mango es simple, largo y carnosa. Varia en tamaño, forma, color, contenido de fibra, sabor y textura. Podemos diferenciar la fruta en tres partes, siendo estas el pericarpio, exocarpio y mesocarpio. La calidad de la fruta es determinada por la escasez de fibra y un mínimo sabor a trementina. La clorofila, carotenoides, antocianinas y xantofilas están presentes en el fruto, aunque la clorofila desaparece durante la maduración de la fruta, mientras que las antocianinas y los carotenoides incrementan durante la maduración (7).

Existen cientos de cultivares, siendo más de 1000 los derivados de la semilla del mango, estos son los monoembrionicas y poliembrionicas derivando de India e Indochiona. Muchos cultivares son monoembrionicos y deben ser propagados por injertos ya que no tienen una polinización verdadera, entre ellos tenemos a Alphonso que es considerado el rey del mango y es un excelente producto para exportar. Sin embargo, cultivares que se adaptan y logran sobrevivir al clima pueden fracasar en otros, por lo que las necesidades varían según el país en donde crecen. Actualmente el mercado está dominado por el cultivar Tommy Atkins, proveniente de las semillas Haden. Elogiado por su excelente productividad y resistencia a enfermedades, tiempo en vitrina, transportabilidad, tamaño y color. Muchos de los demás cultivares se cultivan fácilmente usando arboles jóvenes previamente injertados. Las variedades enanas o semi-enanas sirven como plantas ornamentales y se pueden cultivar en contenedores (10).

1.1.2. Componentes del mango

La información recopilada sobre el mango muestra que son una importante fuente de micronutrientes (como vitaminas C y B, minerales), y otros fitoquímicos (fenoles, polifenoles, pigmentos y constituyentes volátiles). Además, provee energía, fibra, y carbohidratos, proteínas, lípidos y compuestos fenólicos clasificados como macronutrientes, que son vitales para el

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

crecimiento humano, desarrollo y salud. Tanto las hojas, las flores, el fruto, la pulpa, cascara y semillas contienen nutrientes esenciales que pueden ser ampliamente utilizados (13).

Tabla 3: Componentes del mango

Mango	
Cáscara del mango	Semilla del mango
Fibra	Almidón
Minerales	Lípidos
Antioxidantes (compuestos fenólicos: mangiferina, kaempferol, quercetina, antocianinas)	Fibra Esteroles (campesterol, estigmasterol) Tocoferoles
Mono y diterpenos	

Fuente: Jahurul et al (13)

Durante el desarrollo y maduración de la fruta ocurren cambios bioquímicos, fisiológicos y estructurales que afectan la composición nutricional y fitoquímica (14)
El mango verde tiene un sabor más acido debido a la presencia de diferentes ácidos como el ácido cítrico, el ácido málico, acido oxálico, acido succínico y otros ácidos orgánicos. Además, sus altas concentraciones en β - caroteno y otros fitoquímicos pueden prevenir la leucemia y la progresión de distintos cánceres como el de próstata, mama y colón (15)

1.1.3. Macronutrientes

a. Carbohidratos

El mango maduro es una gran fuente de azucares (glucosa, fructuosa y sacarosa) y otros carbohidratos como el almidón y las pectinas. Todas estos, componentes importantes en el valor nutricional y el aspecto de la fruta, teniendo alrededor del 15% de azucares totales. Siendo la fructuosa el mayor monosacárido presente durante la fase pre-climática mientras que la sacarosa es el principal azúcar en la maduración de la fruta. En los cultivares africanos, los azucares totales varían entre el 10.5 y 32,4%. El almidón es importante desde un punto de vista cuantitativo en la fruta no madura, durante la maduración, el almidón se hidroliza para convertirse en glucosa y después de la fosforilación, la glucosa unida a un grupo fosfato entra a un ciclo fútil para la síntesis y degradación de la sacarosa, que controla el contenido de glucosa, fructuosa y sacarosa, incrementando así durante la maduración. Este incremento se ha visto en cultivares como el Baladi, Haden, Alphonso, Dashehari, Keitt y Tommy Atkins. La pectina, por otro lado, es un carbohidrato estructural abundante en la pulpa del fruto y es considerando un componente

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

importante, cuando la fruta aún no está madura, esta se acumula, pero mientras esta va madurando a su vez el peso molecular de esta disminuye, esto debido a la actividad hidrolítica de las enzimas en esta etapa (16).

b. Proteínas y aminoácidos

El mango, como otras frutas no tiene un contenido considerable de proteínas comparado con otros macronutrientes. Sin embargo, el mango peruano las proteínas totales alcanzan del 1.5 al 5.5%, mientras que en Colombia e India el contenido fluctúa entre 0 – 0.6% y 0.5 -1% respectivamente. El contenido de aminoácidos también cambia según los cultivares y el estado de maduración, los aminoácidos como alanina, arginina, glicina, serina, leucina e isoleucina están presentes en cantidades considerables durante la maduración, en contraste con las trazas que se encuentran del resto de aminoácidos (16)

Tabla 4: Composición de aminoácidos en porciones comestibles del mango

Aminoácido	Contenido en g/100 g de fruta
Isoleucina	0-0.029
Leucina	0-0.050
Lisina	0-0.066
Metionina	0-0.008
Fenilalanina	0-0.027
Tirosina	0-0.016
Triptófano	0-0.013
Treonina	0-0.031
Valina	0-0.42
Histidina	0-0.19
Arginina	0-0.031
Alanina	0-0.082
Acido aspártico	0-0.068
Acido glutámico	0-0.096
Glicina	0-0.034
Prolina	0-0.029
Serina	0-0.035

Fuente: Maldonado-Celis M (16).

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM
UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

c. Lípidos y ácidos grasos

Estos son nutrientes que se encuentran en pequeña cantidad en la pulpa del mango. Sin embargo, las semillas y las cascaras han sido consideradas como una fuente de ácidos grasos y se comparan con la mantequilla de cacao. Siendo subproductos útiles del mango que pueden ser de importancia en las industrias farmacéuticas y alimentarias. Los ácidos grasos más prominentes se encuentran en la semilla del mango y su corteza (conocida como pepa) que son el ácido palmítico, esteárico, oleico y linoleico. El ácido lignocerico y araquidónico se encuentran en concentraciones menores. Algunos de estos compuestos se incorporan a los chocolates para aumentar el contenido de grasa solida que inhibe la esterificación y reduce el tiempo de templado, por lo que podría ser útil para hacer productos resistentes a altas temperaturas. En los cultivares de Alphonso, Pairi y Kent, se encontraron alrededor de 17 ácidos grasos diferentes durante la maduración, con el incremento de ácidos grasos insaturados y omega 3 y omega 6, lo que sugiere que el mango es una buena fuente de ácidos grasos esenciales. En 1973, Bandyopadhay y Gholap demostraron la asociación entre la intensidad del sabor y aroma y la proporción de ácido palmítico o palmitoleico en la fruta madura para aplicarlo como un rango del aroma y sabor del mango, cuando esta proporción es mayor o menor a 1, la fruta tiene un aroma plano o fuerte respectivamente. Además, se cree que los ácidos grasos podrían ser precursores para la biosíntesis de lactonas, las cuales son importantes en el sabor de las comidas (16,17).

1.1.4. Ácidos Orgánicos

Los ácidos orgánicos son caracterizados por poseer propiedades acídicas débiles, son necesarios para el metabolismo aeróbico y como constituyente al sabor que contribuye a la calidad de la fruta, sus propiedades organolépticas y la acidez. Se han identificado en diferentes variedades del mango y su contenido varía dependiendo de la síntesis de ácidos, degradación, utilización y factores externos como temperatura, luz, fertilización, agua y otras prácticas en el manejo de la planta. Los ácidos presentes en el mango son el ácido cítrico, oxálico, succínico, málico, pirúvico, tartárico, muconico, glucurónico y galacturónico, en alrededor de 0.13 a 0.71% del peso en fresco (16).

1.1.5. Micronutrientes

a. Vitaminas

Las vitaminas A y C son predominantes, lo que sugiere que la composición del mango puede completar la ingesta diaria de estas vitaminas. Existe una fluctuación amplia en la pulpa del mango de 9.79 a 186 mg por 100 g de pulpa. Los cultivares Kent, Tommy Atkins y Keitt de Perú, México, Brasil y Ecuador se evaluaron y se reportó que el promedio de vitamina C fue de 10.3, 24.7, 25.6 y 31.0 mg, mientras que la variedad de Ataulfo obtuvo 125.4 mg en el cultivar de

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

Brasil, estas variaciones se atribuyen a diferentes factores en la pre y post cosecha. Por otro lado, el contenido cambia durante la maduración, el contenido es mayor cuando el mango aún no está maduro, cuando se almacena a temperatura ambiente y va madurando este decrece rápidamente, esto se debe a el papel de la vitamina C en diferentes rutas metabólicas (16). La vitamina A y sus metabolitos tienen actividad antioxidante, beneficios para la vista, inmunidad y tiene efectos beneficiosos contra el cáncer y enfermedades cardiovasculares. La concentración se encuentra entre 100 y 6000 IU y el consumo de 235 a 300 g provee el contenido diario de retinol recomendado. Comparado con la vitamina A, las vitaminas K y E son menores en la pulpa del mango (9). Las vitaminas del complejo B son importantes tanto para el metabolismo de la planta y del ser humano, el mango posee todas las vitaminas del complejo B excepto la biotina. El contenido de estas varia conforme la fruta madura (9).

Tabla 5. Vitaminas presentes en la parte comestible del mango

Vitamina	**Valor por 100 g**
Acido ascórbico (Vit C)	13.2-92.8 mg
Tiamina (B1)	0.01-0.04 mg
Riboflavina (B2)	0.02-0.07 mg
Niacina (B3)	0.2-1.31 mg
Ácido Pantoténico (B5)	0.16-0.24 mg
Piridoxina (B6)	0.05-0.16 mg
Folato total	20-69 ug
Acido fólico	0 ug
Cobalamina (B12)	0.00
Vitamina A	54 ug
Vitamina E	0.79-1.02 mg
Vitamina K	4.2 ug

Fuente: Lebaka V (9).

b. Minerales

El mango es una fuente importante de minerales esenciales para la gran cantidad de reacciones bioquímicas que tenemos en nuestro organismo, tiene varios macros y microminerales como calcio, sodio, cobre, fierro, fosforo, potasio, magnesio, manganeso, zinc, boro y selenio.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

Tabla 6. Minerales presentes en las partes comestibles del mango

	Minerales (mg)		
	Pulpa	Cáscara	Semilla (pepa)
Calcio	11	150	450
Fierro	0.16	40.6	11.9
Magnesio	10	100	100
Fosforo	14	-	140
Potasio	168	75	365
Sodio	1	50	150
Zinc	0.09	1.74	1.1
Cobre	0.04-0.32	10.4	-
Selenio	0-0.6	-	-

Fuente: Lebaka V (9).

1.1.6. Compuestos fitoquímicos

El mango tiene diferentes compuestos fitoquímicos como ácidos fenólicos que son metabolitos secundarios que forman parte de la dieta diaria y son importantes debido a la habilidad biológica y beneficios que tiene para la salud; encontramos glucogalina en la pulpa y en las hojas, semillas y ramas tenemos mangiferina, isomangiferina, homomangiferina, acido gálico, entre otros. Además, tenemos flavonoides, polifenoles, pigmentos como clorofila, carotenoides y flavonoides (16)

Dentro de los β - carotenos tenemos a la violaxantina, cryptoxantina, luteoxantina y zeaxantina. La cantidad de estos componentes es distinta según la variedad, sin embargo, no podemos atribuir esto al estado de maduración, pero si podemos decir que el clima tiene un efecto directo sobre todo la temperatura (18).

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

Tabla 7. Compuestos fitoquímicos del mango

Fruta	Tipo de residuo	Compuestos bioactivos			Bioactividad
Mango	Semilla	Clase	Concentración (mg/kg)	Compuestos	Antioxidante, antitumoral, antibacteriano, antiviral, efecto modulador del sistema inmunológico
		Ácidos fenólicos	n.a	Ácido gálico y derivados	
		Flavonoides	7200-13000	Quercetina, Isoquercetina, Fisetina	
		Taninos	n.a		
		Xantenoides	13600	Mangiferina	
		Catequinas	n.a	Epicatequina, Epigaloctateina, Epicatequina galato	
		Carotenoides	7.9		
	Cáscara	Carotenoides	1900	β-cryptoxanthin Lutein β-carotene	Antioxidante, Prevención del envejecimiento, reduce el azúcar en sangre, el colesterol, anti angiogénico, actividad neuroprotectora.

Fuente: Ohtman, B (14)

1.1.7. Compuestos fenólicos

El estudio de compuestos fenólicos en el árbol de mango y la fruta se viene estudiando desde 1976, distintos trabajos indican que todo el mango contiene contenido considerable de fenoles incluyendo flavonoides, ácidos fenólicos, xantanos y taninos. Dentro de estos, los 4 que se encuentran en abundancia son el ácido elágico, el ácido gálico, mangiferina y quercetina, al igual que sus derivados en forma de taninos o glucósidos, la concentración puede variar según la variedad del mango, el manejo post cosecha, el estado del mango y la parte del mango que ha sido analizada (19). La pulpa del mango es una de las partes más utilizadas por su utilización en

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM
UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

gelatina, jugos, néctar y tienen un alto contenido de compuestos bioactivos, por ejemplo, en la variedad de Ataulfo. El contenido total de compuestos fenólicos varía entre 24.44 y 148.33 mg por 100 g de pulpa. Sin embargo, ya que la pulpa pasa por procesos que la exponen a cambios fisicoquímicos esta pierde calidad organoléptica, esto se puede mejorar con un buen manejo de conservación. Por otro lado, tenemos a la cascara que gracias a su composición bioquímica ha ganado el interés de los investigadores por su gran contenido de polifenoles, carotenoides, tocoferoles y acido ascórbico. Esto le da un valor agregado en el área farmacéutica y alimentaria ya que su contenido es mayor al de otras frutas como la manzana, palta, plátano, uva, kiwi, lima, melón, naranja, papaya, durazno, piña, entre otros. El pretratamiento y preservación inducen a la degradación, pero al mismo tiempo puede ayudar a la liberación de material intracelular, por lo que el tratamiento con temperatura y la inflación por compresión son dos formas de facilitar la extracción de compuestos fenólicos en la cascara del mango (19).

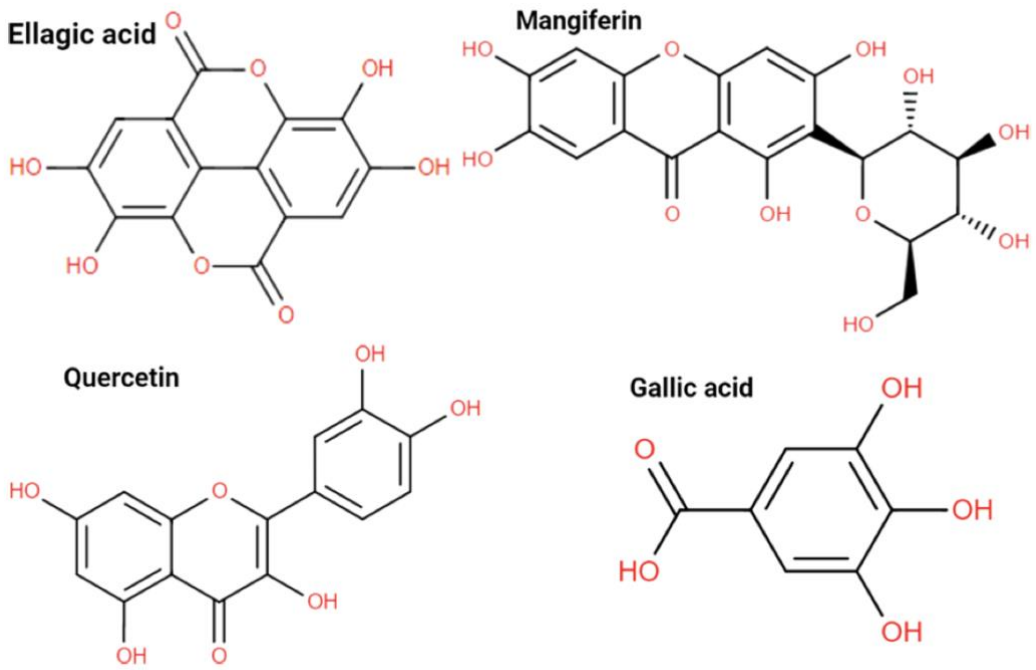


Figura 1. Estructuras fenólicas predominantes en el mango

Fuente: Tacias-Pascacio et al (19)

1.1.8. Importancia económica del mango

El mango es una de las frutas más importantes, su producción global alcanzo los 47 millones en el 2020 (20) y es el segundo fruto tropical en el mundo después del plátano. Este ha sido cultivado en India por más de 4000 años, y hoy crece en alrededor de 80 países en regiones tropicales y subtropicales. Mas del 70% se produce en Asia y el Pacifico, aproximadamente el 13% en

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

Latinoamérica y el Caribe, y menos del 10% en África, siendo India el mayor productor con 40% de la producción global. A pesar de la cantidad que se produce, menos del 10% es exportada, pero el interés por la fruta se viene incrementando en los recientes años. Hace 30 a 40 años, el mango se consideraba una fruta exótica y rara en muchos países, especialmente en Europa y Norte América, hoy en día lo podemos encontrar en los mercador en casi todos los países, aunque aún quedan vallas que superar respecto al conocimiento de la fruta, por ejemplo, en Estados Unidos el 17% de los consumidores no sabe que se puede encontrar el fruto todo el año ni tampoco saben cómo seleccionarlo al momento de comprarlo (21,22).

La Organización de las Naciones Unidas para la alimentación y la agricultura (FAO), publicó sus resultados preliminares del mercado de las mayores frutas tropicales, en la cual mencionan lo siguiente. Globalmente la piña, palta y mango continúan siendo las frutas tropicales más significativas en términos de exportación en el 2021, con aproximadamente 3.3 millones de toneladas, siendo el mango y la guayaba el 27% del comercio mundial de frutas tropicales, tanto en términos de cantidad como de valor constante en 2021 (22).

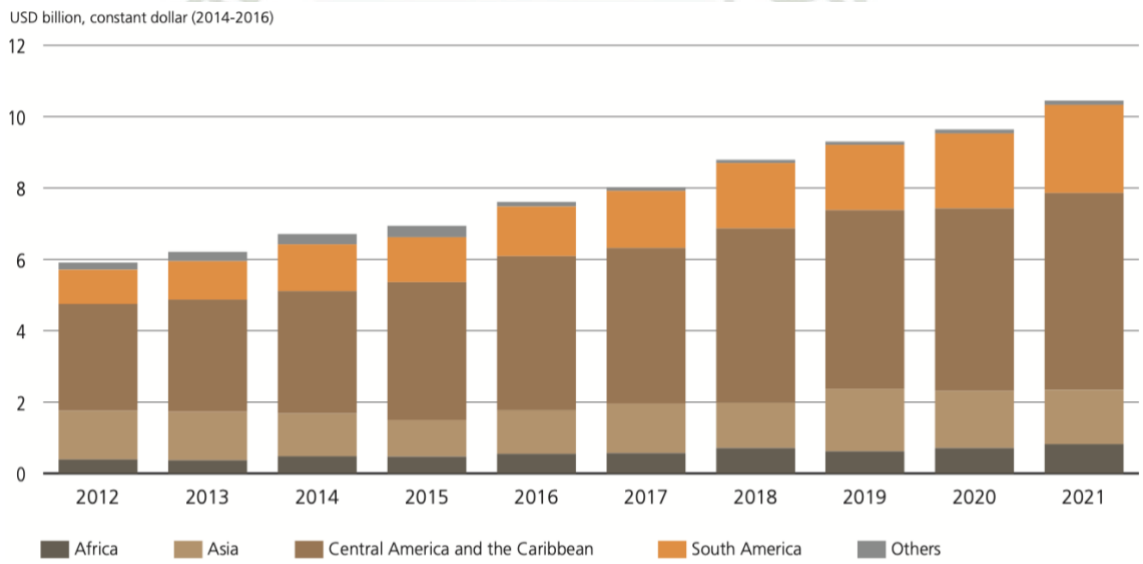


Figura 2. Agregado global y volumen de exportaciones de frutas tropicales

Fuente: FAO data (22)

Según la FAO 2022 (22) las exportaciones globales del mango y guayaba incrementaron en un estimado de 2.3 millones de toneladas en el 2021, con un incremento de aproximadamente 3%, o 75000 toneladas con respecto al 2020. México, es el exportador más grande a nivel mundial, con aproximadamente el 21% de todas las exportaciones, pero debido a condiciones de climas adversas, su crecimiento solo se estima en un 2%, siendo su mercado principal los Estados Unidos y Canadá. Tailandia a su vez, bajo su estimado en un 4% por condiciones adversas en regiones

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

donde este se cultiva, lo que redujo el crecimiento de exportaciones a China, que es el país receptor de Tailandia. Por otro lado, las exportaciones por parte de Sudamérica se expandieron en aproximadamente un 13%, llegando a 62000 toneladas. Condiciones favorables en Brasil y Perú, resulto en estos siendo fuertes suministradores y facilito el crecimiento de un 15 y 12% respectivamente. El principal destino de las exportaciones son el mercado europeo, y tan solo un 20 al 30% se destina al mercado americano. Importaciones que vienen en incremento por países que antes no lo hacían contribuyeron al crecimiento global de importaciones, siendo estos Arabia Saudita, Los Emiratos Árabes y la federación Rusa.

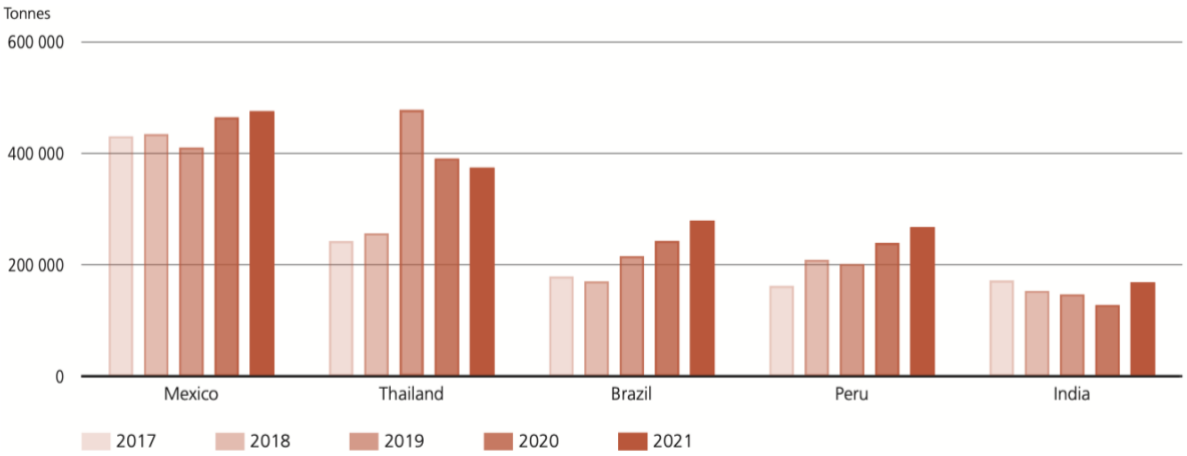


Figura 3. Mango y guayaba: cantidad de exportaciones por los países lideres (2017-2021)

Fuente: FAO data (2022) (22).

1.1.9. Mango en el Perú

Brasil fue el primer país en América en cultivarlo, cuando fue introducido por los portugueses en el siglo XVI, fue en 1810 cuando la variedad Criollo de Chulucanas se introdujo al Perú por los españoles y en 1969, alrededor de 44 cultivares se introdujeron desde Florida y fueron cultivados en el norte del país (23). Desde ese momento el mango ha crecido en 22 de los 24 departamentos del Perú, siendo Piura y Lambayeque los que contribuyen con el 82% de la producción de mango en el Perú con un 66.7% y 14.6% respectivamente (24).

a. Tipos de mango en el Perú

Según el MINAG, en el Perú se cultivan dos tipos de mango: las plantas francas que son no injertadas y poliembriónicas, como el criollo, el chato de Ica, el rosado de Ica, los cuales se utilizan para la producción de pulpa y jugos concentrados y posteriormente se exportan a Europa; y las variedades mejoradas, también conocidas como injertadas y monoembriónicas donde tenemos al mango Haden, Kent, Tommy Atkins y Edward, que se exportan en estado fresco. En

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

la tabla 1 podemos ver las variedades cultivadas en el Perú y ciertas características como el lugar de producción, época de cultivo, forma, peso y color (25,26).

Tabla 8. Variedades cultivadas en el Perú.

Características	**Variedades**					
	Haden	Kent	Tommy Atkins	Criollo	Edward	Ataulfo
Lugar de producción	Piura y Lambayeque	Piura, Lambayeque y Áncash	Piura y Lambayeque	Norte del Perú	Piura, Lambayeque y Áncash	Piura
Época de cultivo	Diciembre a Enero	Enero a Febrero	Enero	Mayo	Noviembre – Abril	Diciembre -Febrero
Forma	Ovalada	Ovalada	Ovalada	Alargado, pequeño	Redonda u oblonga	Ovalada
Peso	300 a 700 g	500 a 800 g	600 g	90 a 150 g	175 a 250 g	300 a 450 g
Color	Amarillo rojizo	Amarillo anaranjado	Rojo intenso	Amarillo	Rojizo a amarillo	Amarillo vibrante

Fuente: Caballero J., 2019 (25).

b. La industria de mango en el Perú

Incorporándose en las grandes ligas del mercado mundial y compitiendo junto a países como India, México, Brasil, Tailandia y Ecuador como exportadores de mango, el Perú viene creciendo de manera sostenible, por lo que se revela un crecimiento exponencial, alcanzando en los últimos dos años una exportación de 232 683 toneladas según el MIDAGRI (2,27).

Sus principales mercados son Holanda con 42%, seguido de Estados Unidos con un 27% y se observa a Corea del Sur como un mercado promesa. Entre las variedades más exportadas tenemos al Ataulfo, Edward, Haden, Kafro, Kent y Tommy Atkins pero la verdad preferida es Kent por su resistencia a largos viajes manteniendo su sabor, textura y valor nutricional, la Asociación Peruana de Productores y Exportadores de Mango (APEM), menciona que el Perú envía principalmente el mango como fruta fresca, congelado, pulpa y jugo, lo que equivale al 60, 20 y 5% respectivamente. La cosecha inicia en noviembre y se extiende hasta marzo, el clima juega un rol importante, así como la experiencia de nuestros agricultores, lo que permite que el Perú pueda competir con otros países exportadores, siendo los principales lugares de cosecha San Lorenzo, Chira, Medio Piura y Alto Piura, Lambayeque y Casma (20,28).

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

1.1.10. Residuos del mango

La industria alimentaria genera gran cantidad de residuos, se estima que alrededor del 30 al 50% de la fruta procesada se descarte, lo que significa 0,6 billones de toneladas por año solo contando la industria frutícola, sin embargo, estos desechos son fuentes ricas en compuestos de alto valor con distintas propiedades y usos prometedores (29).

El cultivo de mango en el Perú viene en crecimiento, por lo que la cantidad de hectáreas ocupadas sigue en constante crecimiento, los árboles se podan en la época de otoño para que estos puedan crecer y ser frondosos, estas hojas y tallos se quedan en el suelo generando contaminación. Estos subproductos tienen gran contenido antioxidante, desde compuestos de bajo a alto peso molecular. Las hojas y tallos son más estudiadas que los residuos como la cáscara, semilla y pulpa por su mayor contenido en estos biocompuestos (30).

1.2. Mangiferina

La mangiferina es un xantano C-glucósido, se encuentra en diferentes familias de angiospermas, pero mayormente en la familia Anacardiaceae y Gentianaceae. Se puede extraer de diferentes plantas como *Anemarrhena asphodeloides, Aphloia theiformis, Swertia chirata, Salacia reticulata* y *Mangifera indica* (31). La estructura se conoció por primera vez en 1960 utilizando espectroscopia de resonancia nuclear (NMR) y un análisis con rayos X. Tiene un alto poder antioxidante, esto por los grupos aromáticos presentes en su estructura. Forma complejos con los fosfolípidos incrementando su permeabilidad intestinal lo que lo hace apto para su utilización como droga. Tiene estabilidad térmica y es soluble en agua gracias a su β-ciclodextrina (32).

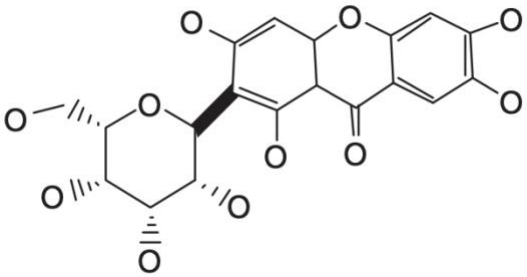


Figura 4. Estructura química de la mangiferina (31)

Fuente: Tacias-Pascacio et al (19).

1.2.1. Características y propiedades

Muchos investigadores han estudiado la mangiferina como principio activo del extracto de mango y se atribuye su actividad biológica a sus compuestos polifenólicos. Sus propiedades

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

farmacológicas han generado gran interés, mostrando capacidad antidiabética, antiviral, antioxidante, anticancerígena, inmunomoduladora, hepatoprotectora y un efecto analgésico, también se le atribuyen propiedades como antiséptico, antiasmático, cardiotónico, poder afrodisiaco y laxante (33).

Debido a su estructura, es capaz de contraatacar los radicales libres y proteger de diferentes condiciones patológicas, además de tener efecto citoprotector y antigenotóxico. Las diferentes actividades biológicas que esta posee aún siguen en estudio, pero su versatilidad para adaptarse a distintas enfermedades como cardiacas, neurológicas, cancerígenas, entre otras y que puede ser extraída de fuentes renovables, la vuelve un metabolito secundario de interés (34).

1.2.2. Aplicaciones

El principal uso de la mangiferina y sus derivados, en la industria farmacéutica suele ser en enfermedades metabólicas, gracias a su poder antidiabético, sirve no solo como preventivo sino para tratar la diabetes, diferentes derivados de la mangiferina actúan como sensibilizadores de insulina o reducen el nivel de azúcar en sangre como el noratirriol. Tiene aplicaciones en el tratamiento de la gota o hiperuricemia, sirve con antihipertensivo, cardioprotector, hepatoprotector, neuroprotector y sirve contra la obesidad. Además, es conveniente que sus metabolitos se encuentran en el hígado, corazón, intestino delgado, estómago, pulmones, bazo y cerebro dentro de 1 hora después de su administración oral (35). En la Tabla 9 podemos ver los efectos protectores que cumple la mangiferina en diferentes órganos.

Tabla 9. Efecto protector de la mangiferina

Órganos	**Enfermedades contra los que la mangiferina tiene protección**
Sistema nervioso	Déficits cognitivos, estrés, depresión, ansiedad, enfermedades neuropsiquiátricas, Alzheimer, neuroinflamación
Corazón	Inflamación cardiaca debido al estrés, cardiopatías diabéticas, enfermedades coronarias, infartos.
Pulmón	Fibrosis pulmonar, edema, bronquitis crónica, inflamación y sepsis inducidas por enfermedades pulmonares, asma
Riñones	Nefropatías diabéticas, inflamaciones relacionadas con el daño renal, lesiones renales.
Hígado	Hepatitis, ictericia, daño hepático agudo, fibrosis, cirrosis, hígado graso.
Piel	Insolación, edema, hiperplasia epidérmica, eritema,

Fuente: Saha et al. 2016 (35).

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

Dentro de sus aplicaciones en la industria cosmética, se utiliza la mangiferina como principio activo en la formulación de diferentes productos para el de cuidado de piel, ayudando con la textura, el efecto humectante, anti-edad, fotoprotector y con capacidades antioxidantes. La mangiferina fue el bioactivo preferido en combinación con los extractos de otras plantas como de la sábila, café, maple (36).

1.3. Métodos de extracción

Los compuestos activos del mango pueden ser extraídos de diferentes maneras, como maceración, por Soxhlet, microextracción en fase sólida e hidrodestilación. Sin embargo, los métodos convencionales consumen relativamente más solvente y más tiempo, lo que podría causar un efecto negativo en la actividad de esos componentes además de la cantidad de desecho que estos generan. Por lo que se buscan tecnologías emergentes para mejorar la eficiencia, reducir los tiempos de operación y el consumo de solventes (37). Además, no hay un procedimiento establecido para extraer todos los compuestos bioactivos de las plantas. Aunque muchos investigadores han trabajado para reportar procedimientos específicos en los desechos del mango (38).

Tradicionalmente, los desechos del mango son pretratados y después se extraen con ayuda de solventes químicos como el agua, acetona o etanol, las técnicas clásicas se basaban en la elección del solvente en combinación con agitación y calor como el método de Soxhlet, el cual es el que tiene el mejor rendimiento hasta el día de hoy, sin embargo, demanda gran cantidad de tiempo (6 horas) y gran cantidad de solvente. Estos métodos tradicionales generaban un efecto negativo en la actividad de estos compuestos y en la cantidad de desechos (39).

1.3.1. Extracción solido-liquido

La extracción solida liquida, también llamada maceración, es el método más utilizado para recuperar compuestos fenólicos de las plantas. Es un proceso simple que consiste, en remojar la muestra seca en un solvente bajo una agitación constante y temperaturas controladas, seguido por una separación de la fase liquida, donde los componentes se encuentran concentrados. Las principales desventajas de este método es que se utilizan cantidades enormes de solvente y los tiempos de extracción son excesivos, pudiendo tomar hasta horas. Y ya que el interés de estos bioactivos radica en sus propiedades biológicas, estas se pueden ver afectadas por la temperatura, solvente y proporción de masa y solvente utilizados. Aunque la extracción solido-liquido, implique un largo proceso y muchas veces se necesite repetir este para poder extraer todo el componente, esta técnica continúa siendo popular, ya que se usa como referencia para contrastar la eficiencia de métodos de extracción emergentes como el de extracción por ultrasonido o por microondas (40).

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

1.3.2. Ultrasonido

En las últimas décadas, el uso de nuevas tecnologías que sean amigables con el ambiente conocidas como "tecnologías verdes" o "química verde" han aumentado significativamente reduciendo los tiempos de extracción y utilizando solventes que no sean tan contaminantes para el ser humano o el ambiente. Una de estas es la extracción asistida por ultrasonido, esta se basa en el principio de funcionamiento de la cavitación acústica o ultrasónica. Las ondas viajan a través del líquido creando ciclos alternos de alta y baja presión, cuando las burbujas colisionan en la superficie del solido se generan efectos de descamación, disrupción celular lo que permite que el compuesto sea liberado en el solvente (40). Para utilizar este método se suelen establecer tiempos entre 5 a 10 minutos, con temperaturas entre los 35˚C, y utilizando como solvente una mezcla de etanol y agua.

Debido a que potencian la extracción por el efecto de las cavitaciones acústicas producidas en el solvente por las olas de ultrasonido son un eficiente método de extracción, también ejerce un poder mecánico, lo que permite que el solvente penetre en el tejido e incremente la superficie de contacto entre la fase líquida y la fase sólida. A pesar de eso la extracción de este bioactivo puede verse afectado por el solvente, la temperatura, el tiempo y la proporción sólido-líquido, por lo que estudios de optimización se llevan a cabo (41).

1.3.3. Microondas

La extracción asistida por microondas es una extracción solido-líquido que ha sido recientemente considerada como una "técnica verde", es un proceso que se basa en el calentamiento de una mezcla de la biomasa y el solvente usando energía de radiación por microondas. Aumentar la temperatura de sistema, acelera el proceso en el cual el solvente puede ingresar a la célula, lo que mejora la difusión de componentes bioactivos de la fruta al solvente. Esto sucede porque el calor se transfiere, de afuera hacia adentro, mientras que el microondas actúa en las moléculas de agua dentro de la planta. Este mecanismo permite que la extracción se lleve a cabo en un menor tiempo y a temperaturas más bajas comparado con los procedimientos convencionales. Durante este proceso de extracción es importante considerar factores como la temperatura, la proporción de solido a líquido y el tiempo, ya que estos pueden afectar la eficiencia del proceso. Al presentar cierto tipo de ventajas, esta tecnología de extracción es prometedora, ya que minimiza la degradación de los compuestos, un problema común al momento de extraerlos, siendo optimizada y estudiada para futuras aplicaciones en el área industrial (40,42).

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM
UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

1.4. Métodos de cuantificación e identificación

1.4.1. Cromatografía liquida

La cromatografía liquida de alto rendimiento (HPLC) se usa para determinar la presencia de un compuesto en la muestra, un análisis cualitativo, aunque su principal aplicación es la una herramienta para el análisis cuantitativo y por tanto juega un rol importante en los métodos analíticos (43).

Hay numerosos ejemplos de trabajos llevados a cabo antes del siglo 20 en los cuales los experimentos pueden ser reconocidos como una *representación temprana* de la cromatografía. Fue el trabajo del botánico ruso, Michael Tswett cuando en 1993 reporto el estudio sistemático que es hoy reconocido como cromatografía. Utilizo una columna cromatográfica liquida en la cual la fase estacionaria era un absorbente solido empaquetado en una columna de vidrio y la fase móvil era liquida, el realizo distintos experimentos con extractos de clorofila en éter petróleo con 100 absorbentes diferentes, y aunque la mayoría de estos ya no son relevantes, algunos como la silica, alumina, carbón, carbonato de calcio, magnesia y sacarosa que se usan hasta el día de hoy. Se identificaron también las diferentes longitudes de onda por espectrofotometría anticipando la manera de detección en la cromatografía liquida. A pesar de que Tswett viajo y discutió sus ideas sobre la cromatografía, estos fueron ignorados hasta principios de 1930. No es hasta 1941 cuando un gran descubrimiento altera el desarrollo de la cromatografía con el trabajo de Martin y Synge, ellos llevaron a cabo la cromatografía de partición de aminoácidos utilizando silica humedecida con agua y tratada con indicadores, más tarde Martin y otros científicos usaron celulosa. Sin embargo, lo más importante fue que produjeron el primer tratamiento matemático de la teoría cromatográfico, por lo que ganaron el premio Nobel en 1952, utilizando esta teoría predijeron muchos avances que serían posibles años más tarde. Con el avance de la ciencia y la tecnología, surgieron diferentes métodos y equipos, a la par la necesidad de un equipo que pueda analizar compuestos farmacéuticos como agroquímicos volátiles y térmicamente inestables, sin utilizar la derivación química. Es así como se introduce la cromatografía en capa fina, cromatografía de gases, entre otras hasta llegar a la HPLC, la propuesta innovadora venia con el uso de pequeñas partículas para un absorbente solido en la fase estacionaria, ya que este materia tenía tan baja permeabilidad para producir un flujo lo suficientemente rápido, se vio en la necesidad de incorporar una bomba para generar la presión suficiente, lo que se conoció como cromatografía liquida de alta velocidad o alta presión, que es conocida hoy por hoy como HPLC, la nueva técnica instrumental con un mejor rendimiento en términos de poder de detección y cuantificación así como velocidad. El equipo estaba compuesto por una columna de acero inoxidable, una bomba que funciona con 2000 psi y produce un flujo continuo necesario para los dispositivos de inyección, el sistema de detección recaía en la observación visual del color en el eluyente de la columna. La HPLC demostró ser más apropiada que la cromatografía de gases para el análisis de

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

compuestos farmacéuticos, agroquímicos y otras sustancias no volátiles importantes para las industrias en desarrollo de esa época, por lo que se desarrolló rápidamente, alguno de los pioneros de esta técnica son Huber, Kirkland, Knox, Snyder y Scott. Es así como durante los años 70, diferentes problemas en el mecanismo de esta técnica se fueron resolviendo, lo que mejoro la selectividad y resolución dando inicio a diferentes tipos de HPLC (44).

a. HPLC hoy

El "surgimiento" del HPLC siguió una progresión en la cromatografía, debido a su rápida aplicabilidad a un amplio rango de muestras, para la mitad de los años 70 esta se volvió la técnica cromatográfica predominante. Sin embargo, otras técnicas cromatográficas siguieron en desarrollo dado los diferentes requerimientos y áreas de aplicación (43).

El HPLC es una técnica analítica que se viene practicando por las ultimas 5 décadas. Distintas innovaciones como UHPLC, cromatografía liquida y espectrometría de masa (LC-MS), cromatografía liquida de dos dimensiones (2D-LC), separaciones quirales, columnas core-shell, y nuevas fases estacionarias han ayudado a que esta técnica tenga un mejor desempeño con diversas aplicaciones, teniendo un rendimiento respecto a la velocidad y mejor resolución, con una sensibilidad mayor y un incremento en la precisión. Esta técnica, ya no está limitada solo a especialistas, sino que es ampliamente utilizada y manejada por estudiantes, químicos, biólogos, trabajadores en producción, investigadores y laboratorios de control de calidad, que alrededor del mundo se vendieron más de 4 billones de dólares en equipos, columnas y accesorios para el cromatógrafo (44).

b. Ventajas del HPLC

La preferencia de utilizar el HPLC como primera técnica analítica viene por los diferentes tipos de analitos que esta puede analizar, desde pequeñas moléculas orgánicas hasta iones presentes en biomoléculas y polímeros. Además, la versatilidad que esta tiene para ser utilizada en conjunto junto con otras técnicas como la espectrofotometría de masas la vuelve la herramienta analítica preferida, combinando una excelente capacidad de separación resulta en la técnica estándar para analizar residuos en la comida, muestras ambientales, forenses, entre otros. Por último, la excelente precisión y robustes del HPLC junto con la detección UV hace que esta sea indispensable (44).

c. Limitaciones del HPLC

- La falta de un detector universal, a pesar de que se utilice un detector UV- VIS.
- Menor eficiencia en la separación comparado con la cromatografía de gases.
- Mayor dificultad.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

1.4.2. Espectroscopia infrarroja – FTIR

La espectroscopia infrarroja (IR) es una técnica utilizada para la identificación y análisis estructural de los compuestos químicos. Los picos en el espectro IR de una muestra representan la excitación vibracional de las moléculas presentes en esta, que están asociadas con varios enlaces químicos y grupos funcionales. Por ello, el espectro IR de un compuesto es una de las mejores características de las propiedades físicas y se reconoce muchas veces como una huella digital. La IR es también una herramienta poderosa para el análisis cuantitativo, al ser la energía absorbida por el compuesto proporcional a su concentración (45).

La radiación infrarroja es una radiación en la región electromagnética del espectro visible (VIS) y la longitud de onda microondas. En infrarrojo cercano (NIR) la excitación de las moléculas se logra en una longitud de onda entre 750 y 2500 nm, lo que corresponde a un rango de 4000 a 13000 cm^{-1} de numero de onda. Muestras sólidas, liquidas y gaseosas pueden absorber la radiación IR en una especifica longitud de onda. En esta región espectral las moléculas que tienen los siguientes grupos funcionales (C-H, C-O, C=O, N-H y O-H), son excitados para estirarse, deformarse o vibraciones de tijera. En comparación con las regiones del infrarrojo medio (MIR; 4000-400 cm^{-1}) donde solo se pueden observar vibraciones fundamentales y armónicas. Por otro lado, en el infrarrojo lejano (400-10 cm^{-1}) se pueden detectar vibraciones rotacionales, se sitúa adyacentemente de la región microondas. La luz grabada en el detector contiene información composicional, que pueden ser por una computadora para reportar múltiples análisis (46).

Algunas de las frecuencias serán absorbidas cuando la luz infrarroja pase a través de una muestra de un compuesto orgánico; sin embargo, algunas frecuencias se transmitirán a través de la muestra sin que se produzca ninguna absorción. La absorción infrarroja está relacionada con los cambios vibratorios que ocurren dentro de una molécula cuando se expone a la radiación infrarroja. Por lo tanto, la espectroscopia infrarroja se puede describir esencialmente como una espectroscopia vibratoria. Los diferentes enlaces (C–C, C=C, C≡C, C–O, C=O, O–H y N–H) tienen diversas frecuencias vibratorias. Si estos tipos de enlaces están presentes en una molécula orgánica, pueden identificarse detectando la banda de absorción de frecuencia característica en el espectro infrarrojo. La espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) es una herramienta analítica de alta resolución para identificar los constituyentes químicos y dilucidar los compuestos estructurales. El FTIR ofrece una investigación rápida y no destructiva para extraer la huella digital de extractos o polvos de hierbas (47).

El instrumento que determina la absorción del espectro se llama espectrofotómetro, los espectrofotómetros con la transformada de Fourier permiten obtener un espectro mucho más rápido comparado con los tradicionales. Se produce un haz de radiación IR, que se emite desde

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

una fuente de cuerpo negro brillante. Posteriormente, el haz pasa al interferómetro donde la codificación espectral tiene lugar, la recombinación de haces con diferentes longitudes de trayectoria en el interferómetro crea una interferencia constructiva y destructiva llamada interferograma. El haz entra ahora en el compartimento de muestras y la muestra absorbe frecuencias de energía, que son características únicas de la muestra de la interferograma. Luego, el detector mide la señal de interferograma especial en energía contra el tiempo para todas las frecuencias simultáneamente. Mientras tanto, se superpone un haz para proporcionar una referencia (antecedentes) para el funcionamiento del instrumento. Finalmente, lo deseable espectro se obtuvo después de que el interferograma restara automáticamente el espectro del fondo del espectro de muestra por software de computadora de transformación de Fourier (48).

El FTIR ha demostrado ser una herramienta invaluable para la caracterización e identificación de compuestos o grupos funcionales presentes en una mezcla desconocida del extracto de las plantas. Además, el espectro como ya mencionamos antes es único y funcionan como una huella digital. Para la mayoría de los compuestos, estos pueden ser identificados por comparación a una librería de compuestos que ya existen. Las muestras pueden ser preparadas de distintas maneras, para las muestras liquidas, la forma más fácil es colocar una gota de la muestra entre los dos platos de cloruro de sodio, la gota forma una fina película entre los platos. Las muestras solidas pueden combinarse con bromuro de potasio y luego ser comprimidas en un pellet fino que puede ser analizado. También pueden disolverse en un solvente como metileno, y luego ser colocados en el plato, el solvente se evapora dejando una fina película del material original (49).

1.5. Tecnologías emergentes y desafíos del escalado industrial

El aprovechamiento de residuos agrícolas como materia prima presenta ventajas económicas y ambientales significativas. La obtención de hojas de mango como subproducto de la industria frutícola, implica un costo reducido de adquisición y contribuye a la valorización de desechos y a la economía circular. Diversos estudios destacan que el uso de residuos vegetales para extraer compuestos bioactivos permite disminuir costos y, simultáneamente, mitigar impactos ambientales asociados a su disposición final (50).

La extracción asistida por ultrasonido demostró ser una tecnología eficaz para recuperar compuestos bioactivos en condiciones de laboratorio, con tiempos de procesamiento y consumo de solvente menores que en técnicas convencionales (51). No obstante, la transición de los procesos desarrollados en laboratorio a escala industrial presenta desafíos técnicos, operativos y económicos que deben ser considerados para garantizar la viabilidad del escalado. Durante este proceso, resulta fundamental mantener la densidad de potencia ultrasónica, controlar la uniformidad de la cavitación y asegurar una adecuada transferencia de masa en volúmenes

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

mayores, lo cual requiere rediseñar el reactor y aplicar configuraciones de flujo continuo o sistemas modulares de sonotrodos, además de implementar controles de temperatura y flujo de solvente y sistemas de recuperación o reciclaje del mismo para minimizar costos (52–54).

Estudios a escala piloto evidencian que la eficiencia de extracción puede disminuir cuando se trasladan las condiciones de laboratorio a volúmenes mayores sin los ajustes necesarios. Se ha observado que la densidad de potencia ultrasónica disminuye significativamente en reactores de gran capacidad, lo que conlleva una menor recuperación del compuesto objetivo (52). También se ha descrito que la cavitación puede volverse heterogénea en suspensiones densas, reduciendo la efectividad del proceso y exigiendo un control más riguroso del mezclado y la hidrodinámica (53). Asimismo, se ha señalado que, para mantener rendimientos comparables, es indispensable realizar un análisis detallado del consumo energético por unidad de compuesto extraído, los costos de operación y la reproducibilidad entre lotes de materia prima (54).

Aunque la extracción por ultrasonido ofrece ventajas evidentes en laboratorio, para escalas industriales pueden resultar más convenientes configuraciones híbridas o continuas que combinen ultrasonido con otras técnicas (como extracción presurizada o reactores de flujo continuo), ya que facilitan la uniformidad del proceso y la recuperación del solvente en tiempo real, reduciendo costos y garantizando una operación más sostenible (51,54) .

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM
UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

CAPÍTULO II

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Materiales

2.1.1. Material biológico

- Hojas de mango

2.1.2. Reactivos

- Etanol al 96%
- Metanol (grado HPLC)
- Acido fórmico (grado PA)
- Agua ultrapura (18 Ω/cm)
- Estándar de mangiferina (Sigma Aldrich)

2.1.3. Material de vidrio

- Beaker de 100, 250, 1000 ml.
- Fiolas 10, 250, 500 mL.
- Matraces 100 y 250 mL.
- Embudos
- Viales de polipropileno de 1,5 mL
- Filtros 450 µm.
- Jeringas de 5 mL.
- Papel filtro
- Papel aluminio
- Parafilm
- Papel resistente a la estufa
- Pipetas Pasteur
- Tips para micropipetas 5-50, 100-1000 µL

2.1.4. Aparatos y equipos

- Liofilizador “Biobase”
- Licuadora industrial
- Sonicador (MRC DC – 200 H)
- Rotavapor RE 100-Pro “Biobasse”
- Cromatógrafo iónico DIONEX ICS 6000 “thermoscientific”
- Espectroscopio infrarrojo por transformada de Fourier (FT-IR) Nicolet Summit “thermoscientific”.
- Tamizador (1.18 mm, 450 µm, 250 µm)

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

- Micropipetas 5-50, 100-1000 µL

2.1.5. Ambientes de trabajo

- Laboratorios F-408 y F-409 de la Universidad Católica Santa María.
- Posada Picardo, Majes, Perú.

2.2. Métodos

2.2.1. Recolección del material

Se recolectaron hojas de mango criollo de los residuos agrícolas encontrados en el Valle de Majes, Castilla en Arequipa-Perú (16°21′46″S 72°11′27″O / -16.362704, -72.19087) en la Hacienda Picardo. Para esto se utilizó guantes para evitar cualquier tipo de contaminación ya que las hojas estaban con tierra y tenían ciertos contaminantes como telarañas y residuos de insectos. Se llenaron aproximadamente 3 costales con hojas de mango criollo y se almacenaron en el laboratorio a temperatura ambiente.

2.2.2. Pretratamiento de la muestra

Una vez que tuvimos las hojas en el laboratorio, se procedió a seleccionar aquellas que estuvieran en mejor estado, en este caso las que estaban verdes, sin presencia de daños por insectos y las que tuvieran menor cantidad de manchas ya sea por el sol o alguna deficiencia. Después, con ayuda de un lavador las dejamos remojar por aproximadamente 5 minutos, con agitación 2 cada dos minutos para remover la tierra. Eliminamos el agua y repetimos el proceso por lo menos 3 veces, pero ya que las hojas aun no estaban por limpias por completo, se lavó cada una a mano. Las hojas se secaron con ayuda de papel toalla y a temperatura ambiente para no exponerlas al sol y que esto afectara algún bioactivo presente (37,55).

2.2.3. Tratamiento de la muestra

Cuando las hojas estuvieron secas, estas se guardaron en bolsas de polietileno y fueron llevadas a la nevera donde se almacenaron a una temperatura de -20˚C por 24 horas siguiendo el pretratamiento para liofilizar las muestras. Una vez congeladas, estas se liofilizaron con el equipo "Liofilizador Biobasse", primero se llevó las muestras a una temperatura de -80˚C por 24 horas, seguido de esto se armó la parte superior del equipo que sirve para liofilizar, se puso las muestras en los racks, y se selló el compartimiento una vez estuvieran las muestras colocadas. Se prendió el vacuómetro y posterior a esto la bomba, lo que redujo la presión de 1 a 10 Pa durante 24 horas. Después del proceso de liofilización, la muestra se recolecto y se procedió a pulverizarla con ayuda de una licuadora industrial, se pulverizo lo máximo que se pudo ya que no se logra triturar el 100% de la muestra (4,56). Para lograr el tamaño de partícula necesaria para la extracción, se armó 3 tamizadores en orden descendente 1.18 mm, 450 µm y 250 µm respectivamente (5). Se vertieron las hojas pulverizadas y se tamizo hasta alcanzar el tamaño requerido, este proceso se

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

repitió al menos 3 veces. Cuando se terminó de recolectar la mayor cantidad de muestra, estas se guardaron en bolsas ziploc, en la oscuridad y a temperatura ambiente hasta su posterior utilización (57).

2.2.4. Extracción de la muestra

Para la extracción de la muestra, se pesó 1g de muestra, excepto para el experimento que requería estar al 80% de etanol y a 80˚C, en el cual se pesó 2g de muestra (56). Se tuvo un total de 15 matraces, los cuales fueron marcados y preparados siguiendo las indicaciones del diseño experimental como se puede ver en la tabla 10. En este caso, se prepararon combinaciones con diferentes proporciones de solvente, tiempo y temperatura. Al trabajar con diferentes concentraciones se tiene en la tabla 10, la proporción de los solventes utilizados. El solvente era una combinación de agua ultrapura con etanol al 96% a diferentes concentraciones, y la proporción solido: líquido fue de 1 en 20. Con ayuda del sonicador MRC DC-200, se realizó la extracción asistida por ultrasonido, alternando la temperatura y el tiempo. Para los matraces expuestos a 80˚C se armó un soporte con ayuda de Tecnopor para que estos flotaran en el agua y la muestra no se secara por completo. Terminada la sonicación, se filtró con papel filtro de paso lento con ayuda de un embudo, la filtración demoró entre 5 minutos a 2 horas según la concentración y temperatura a la que estuvieron expuestos, posteriormente se cerraron con Parafilm y el matraz fue envuelto con papel aluminio para evitar contacto con cualquier tipo de luz, fueron almacenados a 5˚C (6).

Tabla 10. Combinación de los experimentos (Diseño experimental)

N° de experimentos	A	B	C	Tiempo	Temperatura	Concentración
1	0	0	0	15	50	50
2	-1	-1	0	5	20	50
3	1	-1	0	25	20	50
4	-1	1	0	5	80	50
5	1	1	0	25	80	50
6	-1	0	-1	5	50	20
7	1	0	-1	25	50	20
8	0	0	0	15	50	50
9	-1	0	1	5	50	80
10	1	0	1	25	50	80
11	0	-1	-1	15	20	20
12	0	1	-1	15	80	20
13	0	-1	1	15	20	80
14	0	1	1	15	80	80
15	0	0	0	15	50	50

Fuente: Elaboración propia.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

Tabla 11. Componentes de la solución en 20 mL.

Concentración	Etanol (mL)	Agua (mL)
20%	4.17	15.83
50%	10.42	9.58
80%	16.67	3.33

Fuente: Elaboración propia

2.2.5. Optimización

Para optimizar el proceso y siguiendo las variables escogidas. Se planteo un diseño experimental de metodología de respuesta (Box-Behnken), el cual permite encontrar las mejores condiciones de trabajo y realizar un análisis de varianza (ANOVA). Se evaluaron los factores que intervienen en el proceso, los cuales son tiempo de extracción, temperatura y concentración del solvente, con 3 niveles (-1, 0, 1). Los cuales podemos verlos en la tabla 12. En la tabla 13, podemos ver como se llevaron a cabo los experimentos, con un total de 12 experimentos con 3 puntos centrales, los cuales se realizaron por triplicado. Y con ayuda del programa Statgraphics se insertan las concentraciones encontradas con ayuda del cromatógrafo, el programa optimizo y se encontró la combinación deseada para obtener una mayor cantidad de mangiferina.

Tabla 12. Variables del proceso

Niveles	Tiempo	Concentración de etanol	Temperatura
(-1)	5	20	20
(0)	15	50	50
(1)	25	80	80

Fuente: Elaboración propia.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM
UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

Tabla 13. Diseño experimental Box-Benhken

N° de experimentos	A	B	C	Tiempo	Temperatura	Concentración
1	0	0	0	15	50	50
2	-1	-1	0	5	20	50
3	1	-1	0	25	20	50
4	-1	1	0	5	80	50
5	1	1	0	25	80	50
6	-1	0	-1	5	50	20
7	1	0	-1	25	50	20
8	0	0	0	15	50	50
9	-1	0	1	5	50	80
10	1	0	1	25	50	80
11	0	-1	-1	15	20	20
12	0	1	-1	15	80	20
13	0	-1	1	15	20	80
14	0	1	1	15	80	80
15	0	0	0	15	50	50

Fuente: Elaboración propia

2.2.6. Cuantificación

Para la evaluación de mangiferina se utilizó la función de HPLC modo reversa. Se acondiciono la columna Dionex Acclaim 120 C18 de 5µm, 4.6 x 100 mm, específica para HPLC al sistema 1 del cromatógrafo iónico DIONEX ICS 6000, se cambió las cañerías del sistema 1 para acondicionar el modo HPLC y se desvió la entrada al detector UV/Vis. Se cebo con una solución de metanol grado HPLC y agua acidificada con ácido fórmico al 0.1% 25:75 correspondientemente, para la programación de la corrida se estableció por 16 minutos, con un flujo de 1 ml/min siendo la presión mínima de 200 psi y la presión máxima de 3000 psi, se programó una fase móvil de metanol grado HPLC en 25% y agua acidificada con ácido fórmico al 0.1% un 75%. Las otras funciones del cromatógrafo permanecieron apagadas; el generador de eluyente, supresor y conductividad. El autosampler se programó a la posición 1 que pertenece al sistema 1 y se activó el sistema UV/Vis a 258 nm, esta longitud de onda es específica para identificar mangiferina (58).

Para preparar las muestras se utilizó el extracto preparado, se enumeraron y marcaron 15 fiolas de 10 mL cada una, y se preparó soluciones de 1:200. Se enrasó las fiolas con agua ultrapura y se procede a preparar los viales que entraran al cromatógrafo, para esto utilizamos 18 viales (15 muestras y 3 blancos), jeringas y filtros de 450 µm. Se desarmó la jeringa y se colocó el filtro en

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

la punta de esta, después se vierte aproximadamente 3 mL de la solución preparada y se llena el vial con aproximadamente 1.5 mL. Se repitió el proceso con cada uno y para los blancos se utilizó agua ultrapura. Después, se colocaron los viales en el rack de muestras y se procedió con la cuantificación. Ya que las muestras habían sido diluidas en una proporción de 1:200, al momento de encontrar la concentración final de mangiferina estas se multiplican por el factor de conversión y se utiliza una gráfica con el estándar de mangiferina para configurar el tiempo de retención y los parámetros que debemos utilizar. Podemos ver en las siguientes tablas la concentración de mangiferina obtenida en cada repetición.

Tabla 14. Experimentación 1

Experimentación 1							
Tratamiento	**Temperatura**	**Tiempo**	**Etanol %**	**Concentración equipo**	**Factor de dilución**	**Concentración real**	**Promedio**
1	20	5	50	10.4023	200	2080.46	2100.02
				10.5979	200	2119.58	
2	20	15	20	6.0582	200	1211.64	1206.69
				6.0087	200	1201.74	
3	20	15	80	9.9126	200	1982.52	1970.53
				9.7927	200	1958.54	
4	20	25	50	9.6022	200	1920.44	1910.71
				9.5049	200	1900.98	
5	50	5	20	6.7095	200	1341.9	1353.66
				6.8271	200	1365.42	
6	50	25	20	6.8567	200	1371.34	1365.38
				6.7971	200	1359.42	
7	50	5	80	9.601	200	1920.2	1931.92
				9.7182	200	1943.64	
8	50	25	80	9.7759	200	1955.18	1936.31
				9.5872	200	1917.44	
9	50	15	50	10.4	200	2080	2085.04
				10.4504	200	2090.08	
10	50	15	50	10.0412	200	2008.24	1986.82
				9.827	200	1965.4	
11	50	15	50	10.4848	200	2096.96	2070.26
				10.2178	200	2043.56	
12	80	5	50	14.0254	200	2805.08	2778.79
				13.7625	200	2752.5	
13	80	15	20	8.4246	200	1684.92	1665.16
				8.227	200	1645.4	
14	80	15	80	49.2589	200	9851.78	9884.37
				49.5848	200	9916.96	
15	80	25	50	30.6046	200	6120.92	6123.22
				30.6276	200	6125.52	

Fuente: Elaboración propia.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

Tabla 15. Experimentación 2

Experimentación 2							
Tratamiento	Temperatura	Tiempo	Etanol %	Concentración equipo	Factor de dilución	Concentración real	Promedio
1	20	5	50	9.7691	200	1953.82	1923.35
				9.4644	200	1892.88	
2	20	15	20	6.6137	200	1322.74	1311.08
				6.4971	200	1299.42	
3	20	15	80	9.8882	200	1977.64	1977.73
				9.8891	200	1977.82	
4	20	25	50	10.7087	200	2141.74	2129.58
				10.5871	200	2117.42	
5	50	5	20	7.2239	200	1444.78	1443.61
				7.2122	200	1442.44	
6	50	25	20	7.2772	200	1455.44	1448.75
				7.2103	200	1442.06	
7	50	5	80	10.0891	200	2017.82	2014.46
				10.0555	200	2011.1	
8	50	25	80	9.8325	200	1966.5	1947.54
				9.6429	200	1928.58	
9	50	15	50	10.9019	200	2180.38	2181.77
				10.9158	200	2183.16	
10	50	15	50	10.5278	200	2105.56	2094.16
				10.4138	200	2082.76	
11	50	15	50	11.5148	200	2302.96	2305.58
				11.541	200	2308.2	
12	80	5	50	13.8143	200	2762.86	2776.99
				13.9556	200	2791.12	
13	80	15	20	9.6218	200	1924.36	1905.13
				9.4295	200	1885.9	
14	80	15	80	72.399	200	14479.8	14521.24
				72.8134	200	14562.68	
15	80	25	50	29.8913	200	5978.26	5931.41
				29.4228	200	5884.56	

Fuente: Elaboración propia

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

Tabla 16. Experimentación 3

Experimentación 3							
Tratamiento	**Temperatura**	**Tiempo**	**Etanol %**	**Concentración equipo**	**Factor de dilución**	**Concentración real**	**Promedio**
1	50	25	20	8.2305	200	1646.1	1646.14
				8.2309	200	1646.18	
2	50	15	50	9.923	200	1984.6	2001.53
				10.0923	200	2018.46	
3	80	5	50	10.4119	200	2082.38	2127.57
				10.8638	200	2172.76	
4	50	5	20	7.7469	200	1549.38	1513.3
				7.3861	200	1477.22	
5	50	15	50	9.8904	200	1978.08	2003.26
				10.1422	200	2028.44	
6	80	15	80	26.3206	200	5264.12	5241.63
				26.0957	200	5219.14	
7	50	25	80	10.7171	200	2143.42	2131.41
				10.597	200	2119.4	
8	20	15	80	9.5557	200	1911.14	1911.22
				9.5565	200	1911.3	
9	80	15	20	8.7877	200	1757.54	1760.02
				8.8125	200	1762.5	
10	20	5	50	9.9283	200	1985.66	1961.04
				9.6821	200	1936.42	
11	50	15	50	10.007	200	2001.4	1993.56
				9.9286	200	1985.72	
12	20	15	20	6.1627	200	1232.54	1239.36
				6.2309	200	1246.18	
13	80	25	50	18.1953	200	3639.06	3682.78
				18.6325	200	3726.5	
14	20	25	50	10.1827	200	2036.54	2023.68
				10.0541	200	2010.82	
15	50	5	80	9.6691	200	1933.82	1907.92
				9.4101	200	1882.02	

Fuente: Elaboración propia

2.2.7. Análisis estadístico

Una vez que se realizó la optimización del proceso y se hizo un análisis estadístico con la ayuda del programa Statgraphics. Se realizo un análisis de varianza (ANOVA) para evaluar la interacción de cada variable y las interacciones entre ellas, también se pudo ver si el modelo se ajustaba. El programa arrojo los niveles que debíamos utilizar en cada una de las variables para que la extracción de mangiferina sea optima. Utilizando dichos valores se realizó la extracción, podemos ver los valores en la tabla 17. Para esto utilizamos una proporción de 1:30, se utilizó un soporte y se realizó la extracción de la misma forma que fue mencionado anteriormente. Una vez

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

que el extracto se filtró, se procedió a cuantificar la cantidad de mangiferina presente con ayuda del cromatógrafo. Terminada esto, la muestra se congelo y se liofilizo para que pudiera ser evaluada en el microscopio infrarrojo.

Tabla 17. Valores óptimos encontrados

Variable	**Temperatura**	**Tiempo**	**Concentración de etanol**
Nivel	80˚C	24 min	80%

Fuente: Elaboración propia

2.2.8. Ensayo IR

Por otro lado, se extrajo la mangiferina mediante la técnica de ultrasonido, se secó en estufa con la finalidad de que la muestra se vuelva hidratar. Se realizó una mezcla de mangiferina con bromuro de potasio, realizando el procedimiento de formación de pastilla de Bromuro de potasio, de la misma forma se preparó con un estándar de mangiferina de Sigma Aldrich, se leerá a una longitud de onda de 400 a 4000 cm^{-1} en el microscopio FT-IR Nicolet Summit, los datos espectrales de ambos serán comparados con los datos del programa y se identificó los grupos funcionales de ambas muestras (59,60).

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

CAPÍTULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Recolección del material

Para la recopilación del material, se empleó el criterio de selección de hojas en óptimas condiciones, con atributos de coloración y dimensiones que aparentaban una salud foliar superior, perceptibles a simple vista, en diferentes trabajos de investigación publicados se mencionan los lugares en los cuales se obtuvo el material vegetal, pero no se menciona si es que fueron recogidas de haciendas que se dedican a la producción para exportación (5,61). Las hojas recolectadas provienen de una hacienda que no se dedica a la exportación del mango, el cuidado de los árboles no tiene que cumplir con ningún estándar de calidad, esto se puede evidenciar en el estado en el que se encontraron las hojas, las cuales tenían manchas que aseveramos se debe a la falta de nutrientes o también por la exposición directa al sol. Al ser residuos agrícolas, no se esperaba que tuvieran un gran cuidado. Para la obtención de las hojas, se recolectaron en un periodo entre enero y marzo, donde suele haber más cosecha y la copa de los árboles se poda por mantenimiento, como se puede ver en el grafico obtenido del SIEA, donde también se observa que la única región de Arequipa que produce mango es la región de Castilla, en donde se encuentra el distrito de Majes.

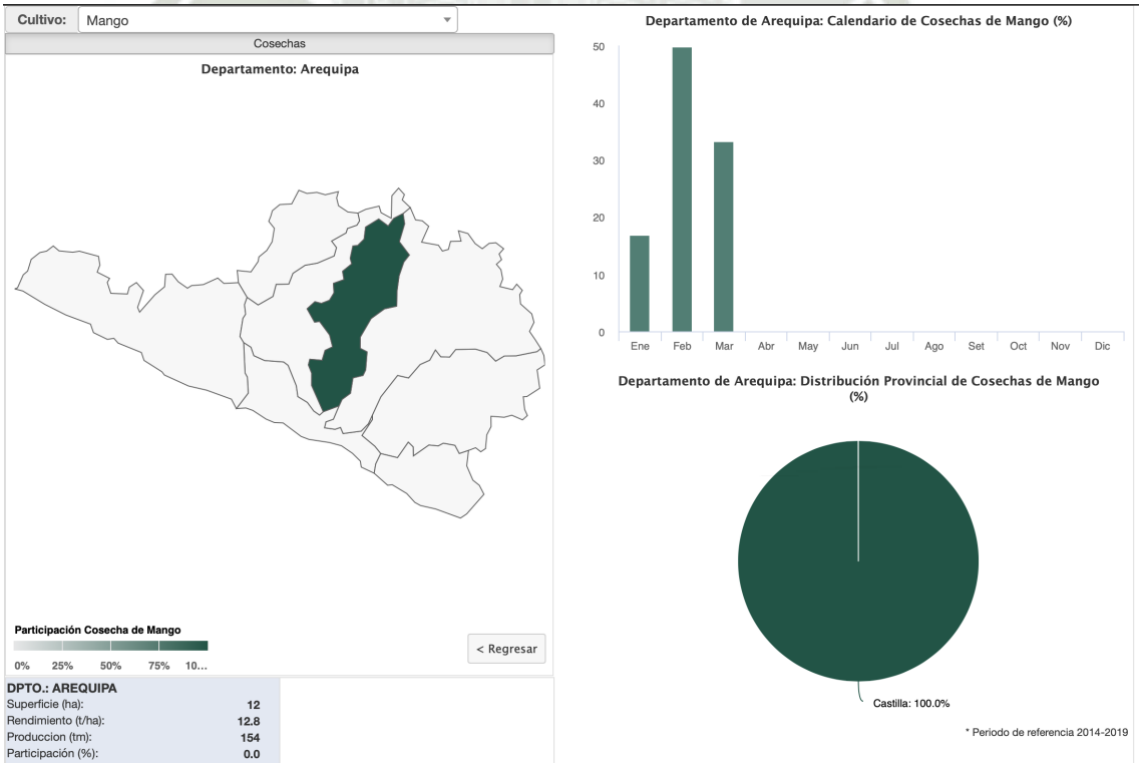


Figura 5. Cosecha del mango en Arequipa

Fuente: SIEA (62)

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

Pretratamiento de la muestra

Para el pretratamiento de la muestra, se seleccionó las hojas que estuvieran en mejor condición, estas fueron limpiadas con agua corriente sin utilizar ningún detergente y después fueron secadas a temperatura ambiente. Varios autores tienen una forma particular de pretratar las hojas, unos la muelen, luego las secan en una estufa eléctrica con recirculación de aire a 38˚C durante 72 horas, otros las secan por 24 a 48 horas, y luego las pulverizan y almacenan en el refrigerador a -80˚C (4,39,63). En la presente propuesta, las hojas fueron secadas manualmente eliminando la mayor cantidad de agua y se secaron en la estufa por aproximadamente 10 minutos, después se colocaron sobre una mesa larga y se dejaron secar. Algunos autores secan sus hojas durante 24 a 72 horas en la estufa antes de ser trituradas a temperaturas de 38 y 54˚C, o también las exponen al sol para secarlas (56,64). Sin embargo, ya que en Arequipa la radiación alcanza un pico más alto del normal, se optó por no secarlas de esta forma ya que las hojas al estar expuestas directamente al sol podrían dañarse u oxidar el material (41). Se verifico que las hojas estuvieran secas al momento de guardarlas ya que de lo contrario se irían pudriendo. Las muestras se almacenaron en bolsas de polipropileno en oscuridad y a -5˚C, el clima característico de Arequipa permitió que las hojas no ganaran humedad (6).

3.2. Tratamiento de la muestra

Se utilizó la liofilización para tratar las hojas, como se sugiere en previos trabajos de investigación (5,37). Para esto, primero las hojas estuvieron congeladas a -20˚C por 24 horas, siguiendo el protocolo del "Liofilizador Biobase" estas fueron congeladas hasta -80˚C por 24 horas y después liofilizadas de 1 a 10 Pa por 24 horas, siendo un total de 72 horas el tratamiento de las hojas. Una vez terminada la liofilización, las hojas tienen que ser pulverizadas y tamizadas hasta el tamaño de partícula deseado. El tamaño de partícula se definió hasta 250 µm, siendo este relacionado con la eficiencia y propiedades antioxidantes tanto en los métodos de extracción convencionales, mientras que, en la extracción por ultrasonido, el tamaño de partícula puede cambiar debido a que la exposición ultrasónica reduce el tamaño de partícula, además causa erosión en las estructuras materiales, permitiendo que el acceso del solvente al soluto contenido en el material vegetal (65). Una vez que las hojas estuvieran pulverizadas, se almacenan herméticamente en la oscuridad y en un ambiente de temperatura controlada.

3.3. Extracción de la muestra

Se extrajeron las muestras por grupos, los niveles de las variables se observan en la siguiente tabla 18. Se escogió los siguientes niveles teniendo como referencias información bibliográfica, entre lo que previos autores describieron.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

Tabla 18. Niveles de las variables de estudio

Niveles	Tiempo	Concentración de etanol	Temperatura
(-1)	5	20	20
(0)	15	50	50
(1)	25	80	80

Fuente: Elaboración propia.

Siendo un total de 15 muestras, estas se separaron por la temperatura, probando diferentes combinaciones con respecto al tiempo y concentración de etanol para la extracción de mangiferina, siendo las temperaturas de experimentación a 20˚C, 50˚C y a 80˚C. El sonicador MRC DC-200 tiene como configuración la temperatura y el tiempo, sin embargo, diferentes investigadores utilizan sonicadores en los cuales se puede variar la potencia y la frecuencia. El extracto se filtró con papel filtro de paso lento y con ayuda de embudos. Se observó que los extractos que tienen mayor cantidad de etanol y están más calientes pasaron rápidamente, demorando aproximadamente 5 a 10 minutos, mientras que los demás demoraron al menos 1 hora en especial los de 20˚C que demoraron más de 2 horas en terminar de filtrar. Si bien, es cierto que la extracción por ultrasonido reduce el tiempo de extracción, la eficiencia de esta depende también del tiempo de sonicación, amplitud, tipo de solvente, tamaño de partícula y tipo de material vegetal (6,65).

En este estudio se optó por un procedimiento de extracción asistida por ultrasonido con solvente único, sin renovación entre ciclos, por varias razones metodológicas y prácticas. Primeramente, los parámetros fueron optimizados (temperatura, concentración de etanol y tiempo) de modo que la tasa inicial de transferencia de masa se mantuviera alta durante todo el experimento, permitiendo capturar la mayor parte del mangiferina libre sin llegar a la saturación del solvente. Además, renovar solvente entre ciclos implica mayor manipulación: filtración, traslado, posibilidad de pérdidas, oxidación o degradación del compuesto; estos pasos adicionales pueden introducir variabilidad y afectar la reproducibilidad. Desde el punto de vista costo-operativo, mantener un solo volumen de solvente reduce la cantidad de solvente usado, el costo del mismo, y la generación de residuos.

Extracciones continuas con las variables optimizadas logran rendimientos elevados comparables o superiores a otros métodos más complejos (66). Asimismo, estudios en compuestos fenólicos demostraron que la extracción por ultrasonido supero métodos convencionales sin necesidad de renovar el solvente (67). Es por estas razones, que se consideró usar extracción continua sin

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

renovación de solvente, equilibrando rendimiento, eficiencia, simplicidad metodológica y reproducibilidad.

3.4. Efecto de la concentración

Para evaluar el efecto que tiene la concentración del solvente (etanol: agua) en la extracción de mangiferina, se utilizaron concentraciones al 20, 50 y 80% respectivamente, tomando como solución inicial etanol al 96˚. Generalmente el metanol, etanol y agua son los solventes más comunes al momento de la extracción, pero el metanol es un solvente toxico tanto para humanos como para el medio ambiente, el agua es una buena opción al ser de fácil acceso y barata pero el rendimiento siempre es menor, y ya que se buscan métodos de extracción verdes, la mejor opción es el etanol (4). Sin embargo, otros autores trabajaron con distintos solventes como hexano, acetona, acetato de etilo y etanol, pero al final concluyen que el mejor solvente es el etanol (68). La mezcla de etanol y agua incrementan la transferencia de masa, esto lo ocasiona la fracción de agua presente en el solvente lo que resulta en la hidratación del material vegetal lo que facilita la entrada de etanol a las células, aumentando el rendimiento (40).

Varias investigaciones trabajan con el rango de concentraciones que fueron escogidas teniendo por ejemplo trabajos donde se evalúa la concentración en un rango de 40 a 80%, (4), otros trabajaron con diferentes concentraciones de etanol, de 20˚, 40˚, 60˚, 80˚ y 96˚ (56), y por último otros a 80% (41). Los óptimos encontrados, sin embargo, difieren de los resultados obtenidos, mientras que unos obtuvieron que el mayor rendimiento de mangiferina, la presente tesis tuvo el mayor rendimiento a una concentración del 40% alcanzando los 37.41 ± 1.90 mg/g de mangiferina (4). Mientras se encontró que, para el tipo de mango criollo peruano, el óptimo es 80%, y se obtuvo 27.79 mg/g de mangiferina, esto puede deberse a la diferencia de la variedad del mango utilizada, otras investigaciones realizan extracciones del mango de variedad Haden, además utilizan una proporción 10:1 mientras que en la presente tesis se utilizó una proporción de 1:20, de igual manera el autor informa que la mejor proporción para ellos fue 30:1.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

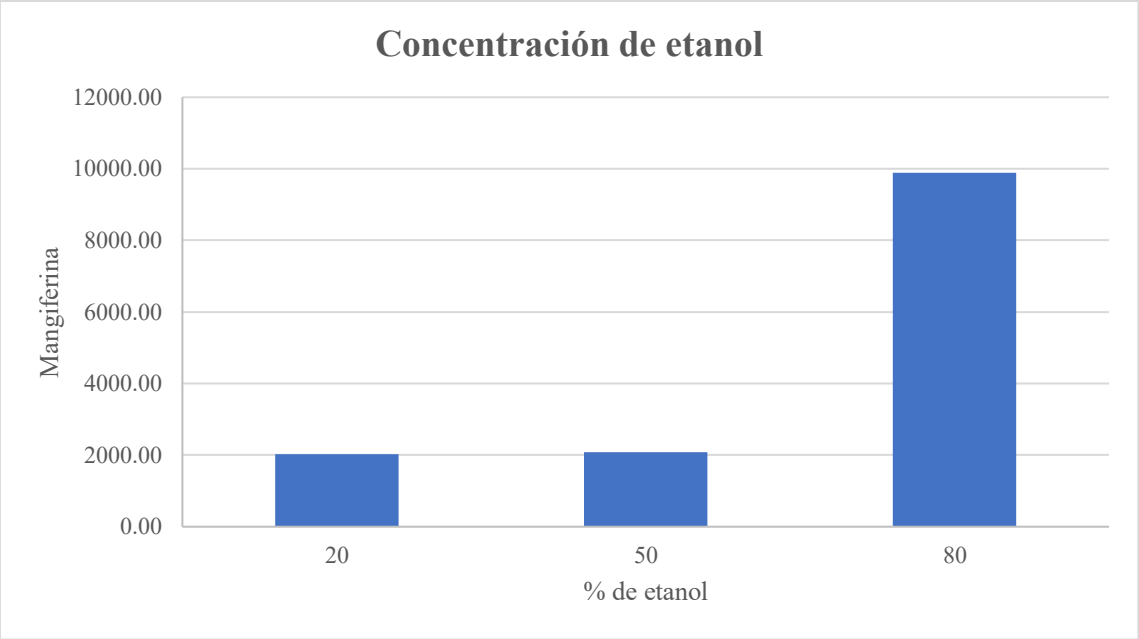


Figura 6. Efectos del parámetro de etanol en la extracción de mangiferina

Fuente: Elaboración propia

3.5. Efecto de la temperatura

Para estudiar el efecto que la temperatura en el rendimiento de mangiferina, primero se evaluaron temperaturas desde los 20˚C hasta los 80˚C, pero ni 40, 60 o 70˚C parecían tener un efecto significativo, buscando más trabajos de investigación se encontró el rango de temperaturas de extracción van desde los 30 a 80˚C, donde se demostró que en un rango de 30 a 60˚C el rendimiento de la mangiferina aumenta, pero que permanece prácticamente estable cuando la temperatura cambia de 60 a 80˚C. El aumentar la temperatura en un proceso de extracción puede aumentar la difusividad del solvente a las células, rompiendo y liberando los componentes al medio. Sin embargo, algunos componentes bioactivos como la mangiferina suelen descomponerse a altas temperaturas. Otros autores concuerdan con ellos, aseverando que el rendimiento de mangiferina que obtuvieron, mejora a 60˚C, pero empieza a decaer cuando la temperatura se sigue aumentando hasta 75˚C (4,56). En contraste, un estudio de cinética demostró que la mayor cantidad de mangiferina se obtuvo a 70˚C y otros autores realizaron la extracción a 30˚C, diferentes autores reportan temperaturas distintas (37,68). En la presente tesis se trabajó con 3 temperaturas: 20, 50 y 80˚C, al momento de trabajar con una temperatura de 80˚C se tuvo problemas ya que el grado de volatilización del etanol es 78˚C y al tener una concentración de 80%, utilizando la proporción de 1:20 el extracto terminaba completamente seco, para poder estudiar este nivel, se duplicó la proporción y se creó un soporte para los matraces con ayuda de tecnopor para que estos no estuvieran en contacto directo con la rejilla, haciendo esto se logró mejorar la extracción y se estudió el comportamiento de la mangiferina. Se resume que para el tipo de mango con el que se está trabajando, la mejor temperatura fue de 80˚C. Aunque la

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

temperatura que se obtuvo como optimo fue mayor a las reportadas, la cantidad de mangiferina fue considerablemente alta. La mangiferina al ser un polifenol tiene compuestos fenólicos insolubles que se liberan al medio cuando los enlaces de lignina se rompen, además la lignina puede ser degradada a altas temperaturas, lo que aumenta el contenido de ácidos fenólicos. Investigadores que utilizan extracción por presión liquida reportan que obtuvieron la mayor cantidad de polifenoles a altas temperaturas entre 100 y 200˚C (69).

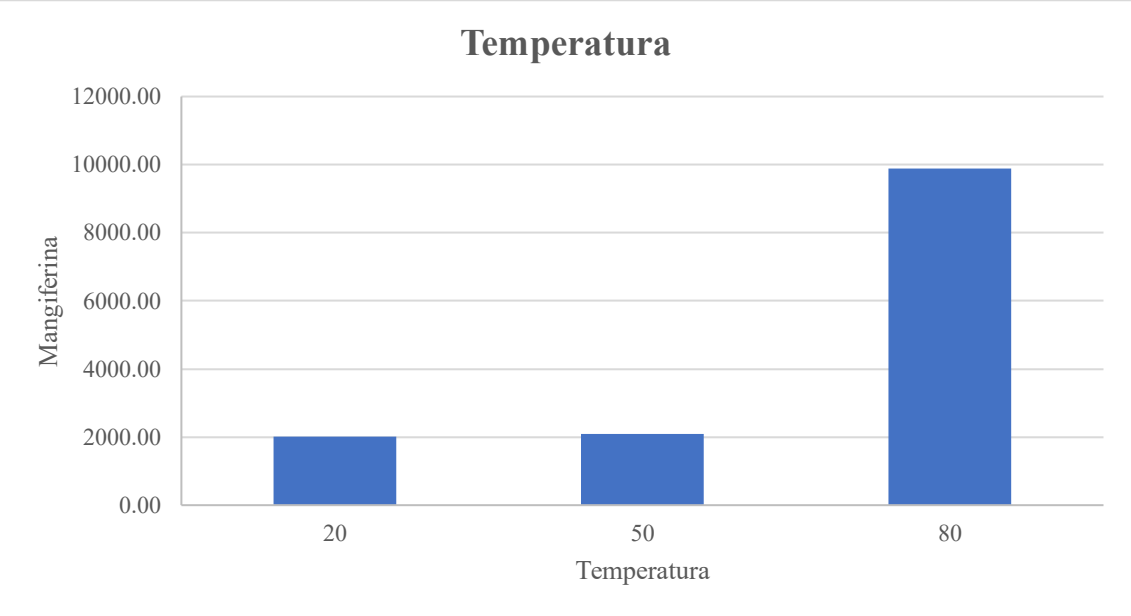


Figura 7. Efecto del parámetro de la temperatura en la extracción de mangiferina.

Fuente: Elaboración propia.

3.6. Efecto del tiempo

Para poder estudiar el efecto del tiempo de extracción, primero se probó con una combinación de 5, 10 y 15 minutos, los niveles del parámetro no fueron significativos en la extracción de mangiferina, probando con mayores rangos de tiempo como; 20, 30 y 40 minutos, pero estos niveles tampoco tuvieron resultados significativos, por último, se decidió trabajar con una combinación de 5, 15 y 25 minutos tomando como referencia los niveles tomados por diferentes autores (4,6,40,56). El autor que trabajo con temperatura optima de 60˚C, estudio el efecto del tiempo, demostrando que al aumentarla de 5 a 20 minutos mejoro la extracción de mangiferina, mientras que cuando el tiempo es mayor a 20 el rendimiento decae. Estos resultados indican que el ultrasonido podría acelerar el equilibrio establecido para la disolución de los compuestos entre las membranas celulares de la planta y la extracción del solvente en un menor tiempo, la mangiferina puede degradarse después de una exposición larga en el ultrasonido por lo que concluyeron que el tiempo óptimo de extracción fue de 20 minutos (4). Otros trabajos que utilizaron hexano como solvente, reportaron 90 minutos como tiempo optimo, otros reportaron

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM
UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

que con 4 minutos ya se había alcanzado el equilibrio y si el tiempo se subía de 5 a 15 minutos este decrecía considerablemente (39,56). A pesar de haber estudiado diferentes tiempos, no se pudo optimizar el tiempo en el proceso, la variable no es lo suficientemente significativa para afectar el proceso positivamente, aseveramos que esto se debe al tipo de mango que se está evaluando, el mango Criollo es una especie nativa del país y de la región de Arequipa, su composición exacta no se puede conocer, por lo que este no encuentra un equilibrio con el solvente en un tiempo determinado. Otros autores mencionan que el tiempo no tuvo un efecto significativo en la extracción de compuestos fenólicos de la cascara y semilla del mango (40). Sin embargo, esto no afecto a que se obtuviera un buen rendimiento en el proceso, como se puede ver en la figura 8 a los 15 minutos se obtuvo la mayor cantidad de mangiferina, aun así, cuando el tiempo interactúa con la temperatura y la concentración de etanol, este no influye para la obtención de mangiferina.

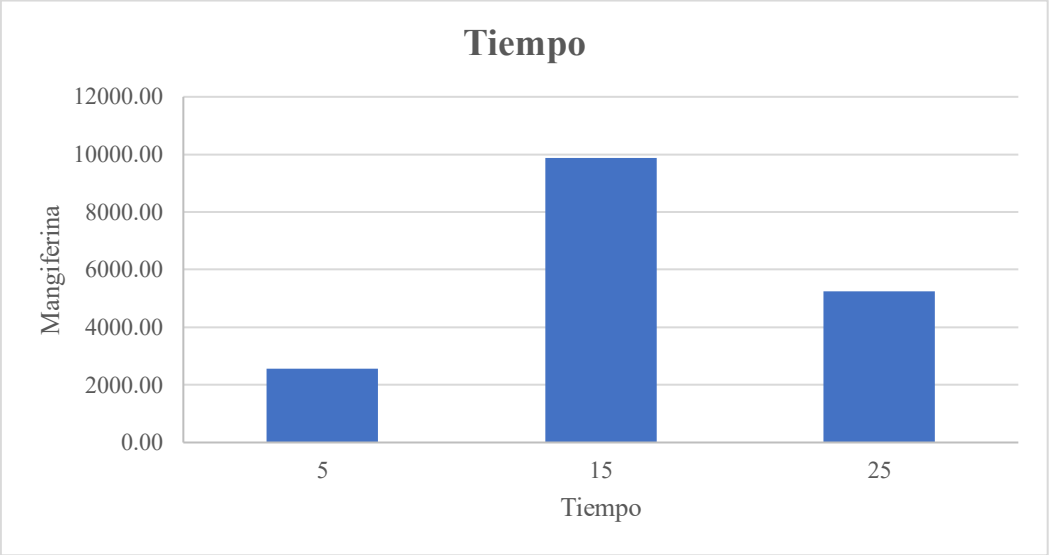


Figura 8. Efecto del parámetro del tiempo en la extracción de mangiferina

Fuente: Elaboración propia

3.7. Cuantificación

Para cuantificar la mangiferina, se utilizó un cromatógrafo iónico que tenía la función de HPLC - RP, a diferencia de otros trabajos donde se utiliza un cromatógrafo HPLC directamente. Aun así, la metodología utilizada no cambia. Para esto se hicieron diluciones de 1:200 con ayuda de fiolas de 10 mL, en donde se utilizó 50 µL de cada extracto, una vez que estas se enrazaron y se agitaron para homogenizar la muestra. Se llevaron a viales y se rotularon.

Se realizo una curva de calibración con el estándar de Mangiferina de Sigma Aldrich, para poder hallar la concentración de mangiferina en nuestro extracto.

Calibrando y utilizando el programa Chromeleon, se obtuvo las siguientes graficas. Cuando se analiza el extracto se visualizan diferentes picos, la mangiferina tiene un tiempo de retención en

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

el rango entre 10 a 11 minutos. Los picos que se observan en los primeros minutos se pueden relacionar a la presencia de isómeros de la mangiferina como isomangiferina y homomangiferina (56).

Se pueden identificar los puntos centrales en la figura 9, donde se aprecia que los tres puntos coinciden con un pico de 13 mAU y un tiempo de retención de 11 minutos. Al ser puntos centrales, exhiben niveles idénticos de las variables en cuestión. Además, se verifica que los tres picos muestran tendencias similares en cuanto a su ancho y altura. Así mismo en la figura 10 podemos ver el pico obtenido en el experimento de 15 minutos a 80˚C y 80% el cual alcanzo una absorbancia de 60 mAU y un tiempo de retención de 10,950 minutos.

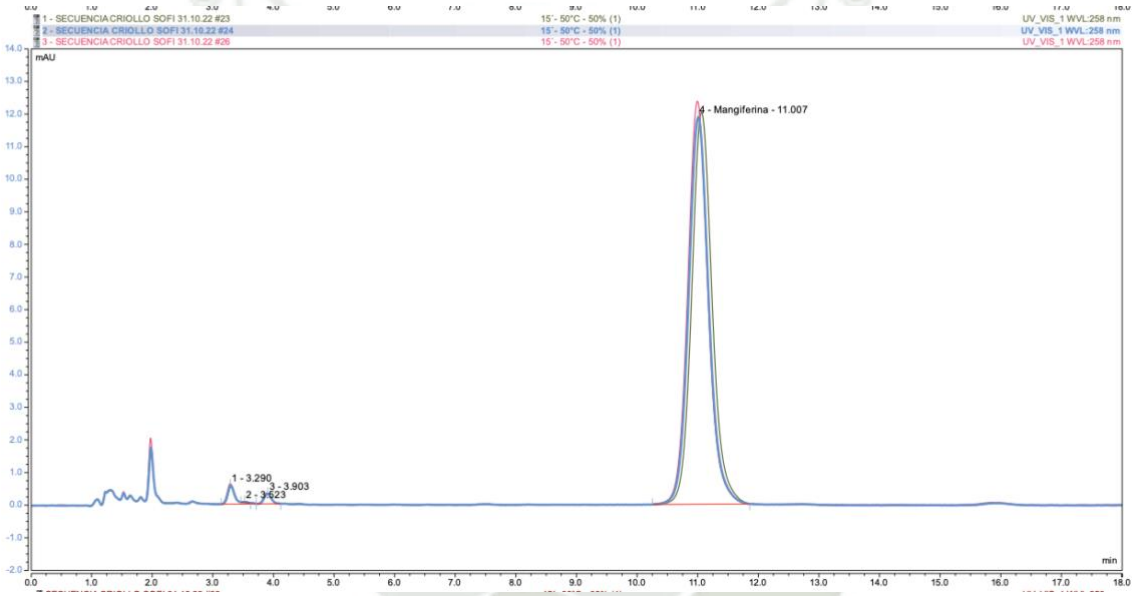


Figura 9. Cromatograma del pico de Mangiferina mediante HPLC-RP

Fuente: Elaboración propia

Así mismo en la Figura 10 se observa la relación altura, ancho del pico que define la concentración de mangiferina en la muestra, se puede visualizar la diferencia de picos, el pico de color azul corresponde a la extracción con variables optimas, mientras que el pico de color gris corresponde a variables simples de extracción, la diferencia en cuanto a tamaño es realmente visible.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

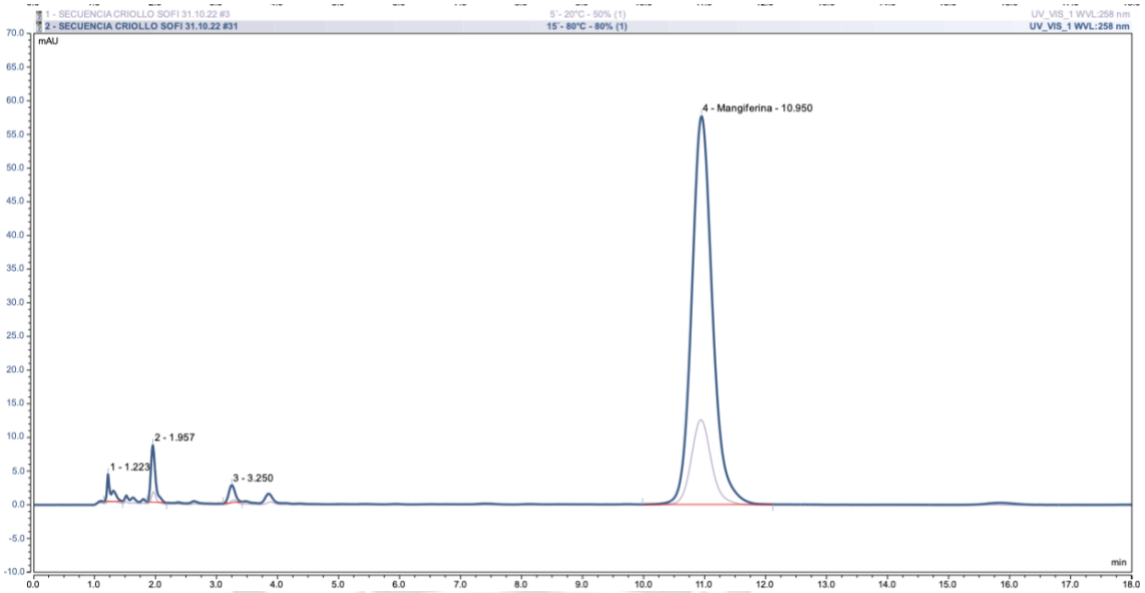


Figura 10. Cromatograma de comparación de picos de Mangiferina mediante HPLC-RP

Fuente: Elaboración propia

3.8. Optimización

En la tabla 19 se observan los resultados en cuestión a concentración de mangiferina que el programa Statgraphics generó para el estudio de optimización, el cual cuenta con tres puntos centrales, además se visualiza el promedio de las tres repeticiones.

Se calculó el promedio de las experimentaciones, se utilizó un modelo de Superficie de Respuesta basado en el diseño de Box-Behnken (BBD) para estudiar los efectos de la temperatura (X_1), tiempo (X_2), porcentaje de etanol (X_3), y las interacciones de estos factores, en la extracción de mangiferina (4,5). El modelo desarrollado también se utilizó para optimizar los parámetros del proceso de extracción de mangiferina, de manera que el diseño de Box-Behnken proporcione como respuesta la ecuación de regresión, los valores óptimos de temperatura, tiempo y porcentaje de etanol, y la estimación de extracción de mangiferina. En la tabla 20 se puede visualizar los niveles de las variables utilizadas para el desarrollo del modelo.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

Tabla 19. Combinación de las variables de estudio

Tratamiento	Temperatura	Tiempo	Etanol %	#1	#2	#3	Promedio	$\pm s/\sqrt{n}$
1	20	5	50	1961,04	2100,02	1923,35	1994,8	53,72
2	20	15	20	1239,36	1206,69	1311,08	1252,38	30,83
3	20	15	80	1911,22	1970,53	1977,73	1953,16	21,07
4	20	25	50	2023,68	1910,71	2129,58	2021,32	63,19
5	50	5	20	1513,3	1353,66	1443,61	1436,86	46,21
6	50	25	20	1646,14	1365,38	1448,75	1486,76	83,25
7	50	5	80	1907,92	1931,92	2014,46	1951,43	32,27
8	50	25	80	2131,41	1936,31	1947,54	2005,09	63,24
9	50	15	50	2001,53	2070,26	2181,77	2084,52	52,52
10	50	15	50	2003,26	2085,04	2305,58	2131,29	90,28
11	50	15	50	1993,56	1986,82	2094,16	2024,85	34,71
12	80	5	50	2127,57	2778,79	2776,99	2561,12	216,77
13	80	15	20	1760,02	1665,16	1905,13	1776,77	69,78
14	80	15	80	5241,63	9884,37	14521,24	9882,41	2678,79
15	80	25	50	3682,78	6123,22	5931,41	5245,80	783,47

Fuente: Elaboración propia

Tabla 20. Variables independientes y niveles usados para el modelo BBD.

Factores	Unidades	Origen del factor	Niveles		
			-1	0	1
Temperatura	°C	X_1	20	50	80
Tiempo	min	X_2	5	15	25
Etanol	%	X_3	20	50	80

Fuente: Elaboración propia.

Se llevaron a cabo un total de 15 experimentos, empleando la metodología de superficie de respuesta (RSM) y utilizando un modelo de segundo orden. (70):

$$Y = \beta_0 + \sum_i \beta_i X_i + \sum_i \beta_{ii} X_i^2 + \sum_i \sum_j \beta_{ij} X_i X_j$$

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

Donde β_0 es el término compensatorio, β_i es el efecto lineal del factor de entrada X_i, β_{ii} es el efecto cuadrático del factor X_i, y β_{ij} es el efecto de interacción lineal-lineal entre el factor X_i y X_j. Además, Y representa la extracción de mangiferina.

La data experimental fue analiza usando el software Statgraphics 19. Se empleó la tabla ANOVA para determinar las interacciones entre las variables del proceso y la variable de respuesta. Además, se elaboró curvas de tres dimensiones de las superficies de respuesta.

La tabla 21 muestra los resultados del análisis de varianza (ANOVA) para los parámetros del modelo de regresión de la superficie de respuesta usando los resultados experimentales para la extracción de mangiferina. Aunque es una convención usar el nivel $\alpha = 0.05$, el nivel 0.10 es ampliamente usado y su aplicación se fundamenta en la cantidad de datos que usan para el estudio. Como lo demostraron Kim y Choi (71), cuando el tamaño de la muestra es pequeño, el valor de β, que es la probabilidad de cometer un error del tipo II, es muy alto en comparación a $\alpha = 0.05$, por lo que, considerando 15 experimentaciones, se utiliza un nivel de significancia $\alpha = 0.10$.

Tabla 21. Análisis de varianza

Variables	Suma de cuadrados	Valor de P	Observación
X_1:Temperatura	1,87408E+07	0,0337	S
X_2:Tiempo	990359	0,5343	NS
X_3:Etanol	1,21015E+07	0,067	S
X_1X_1	7,61222E+06	0,1236	NS
X_1X_2	1,76645E+06	0,4138	NS
X_1X_3	1,37080E+07	0,0557	S
X_2X_2	1,15916E+06	0,5028	NS
X_2X_3	3,5344	0,999	NS
X_3X_3	147866	0,8069	NS
Error total	1,11269E+07		
Total (corr.)	6,77880E+07		

Fuente: Elaboración propia.

La tabla ANOVA de la ecuación de regresión mostrada tiene un coeficiente de determinación de $R^2 = 83{,}59\%$. Este resultado demuestra un adecuado ajuste de la ecuación polinómica y sugiere que tiene un elevado grado de correlación entre los valores observados y predichos. Se puede ver

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM
UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

que los coeficientes lineales X_1 y X_3, y la interacción X_1X_3, son significativas, mientras que el tiempo (X_2) y sus interacciones (X_1X_2, X_2^2, X_2X_3), además de X_1^2 y X_3^2, son no significativos. Estos resultados se muestran también en el siguiente diagrama de Pareto

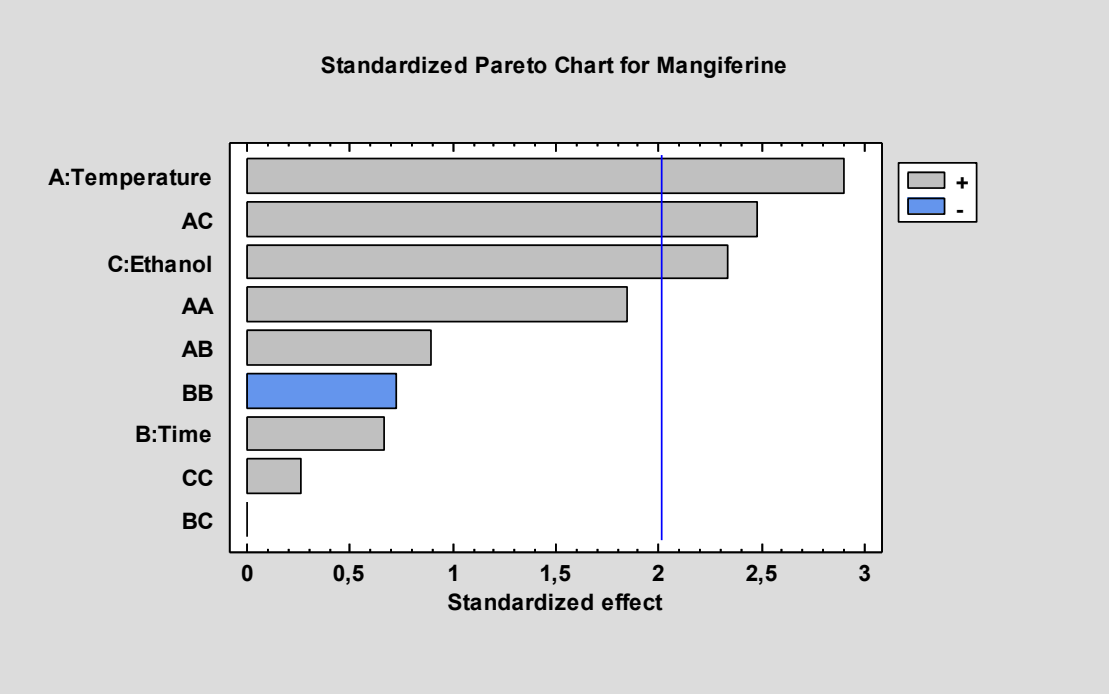


Figura 11. Diagrama de Pareto.

Fuente: Elaboración Propia

En la figura 11 se observa que la temperatura fue el factor más significativo. Además, el porcentaje de etanol y su interacción con la temperatura también fueron significativas. La ecuación polinómica de segundo orden es:

$$Y = 7041{,}29 - 244{,}592\,X_1 + 92{,}3619\,X_2 - 84{,}1304\,X_3 + 1{,}59538\,X_1^2 + 2{,}21513\,X_1X_2 + 2{,}05691\,X_1X_3 - 5{,}60302\,X_2^2 - 0{,}00313333\,X_2X_3 + 0{,}222353\,X_3^2$$

Donde X_1, X_2, X_3 y Y representan a la temperatura, tiempo, porcentaje de etanol, y cantidad de mangiferina extraída, respectivamente. Los signos positivos en los coeficientes representan un impacto sinérgico, y los coeficientes negativos representan un efecto antagonista (72)

Procedimiento de optimización

El módulo de optimización de Statgraphics 19 busca una combinación de niveles de los factores que simultáneamente satisfagan los requisitos impuestos para cada variable de respuesta y factor. Para las variables de trabajo, se busca los valores óptimos para la temperatura, tiempo, y

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

porcentaje de etanol, de manera que se maximice la extracción. El diagrama de efectos principales muestra el impacto de los factores:

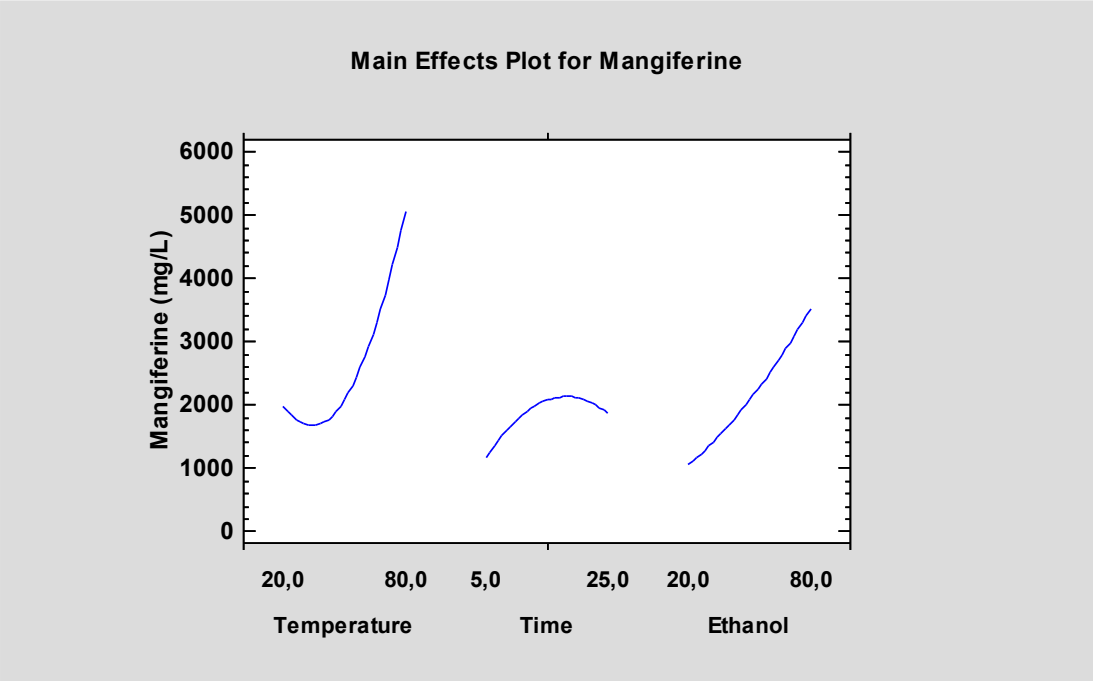


Figura 12. Diagrama de efectos principales

Fuente: Elaboración propia

De este diagrama se puede ver que el porcentaje de etanol utilizado guarda una relación directa con la cantidad de mangiferina extraída, mientras que con el aumento de la temperatura se aumenta la cantidad extraída. Por otro lado, el diagrama del factor tiempo presenta una caída después de alcanzar un máximo, pero este gráfico es referencial ya que el diagrama de Pareto y la tabla ANOVA muestran que este factor no es significativo.

Con el modelo de regresión desarrollado, el software Statgraphics 19 indica que las condiciones óptimas para maximizar la extracción de mangiferina son: temperatura de 80°C, tiempo de 24,069 minutos y etanol de 80%. Con estos parámetros, la cantidad de mangiferina teóricamente extraída seria de 8789,65 mg/L.

Para poder encontrar la concentración de mangiferina por gramo de muestra realizamos los siguientes cálculos.

$$8789{,}65\,\frac{\text{mg}}{\text{L}} * \frac{1\ \text{L}}{1000\ \text{mL}} * 2\ \text{mL} = 17{,}5793\ \text{mg}$$

$$\frac{17{,}5793\ \text{mg}}{1\ \text{g de muestra}} = \mathbf{17{,}5793\,\frac{mg}{g}}$$

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

Asimismo, podemos observar los gráficos de superficie de respuesta (Fig. 13) que ilustran el impacto de los factores en la extracción de mangiferina, cuando una de las variables permanece fija.

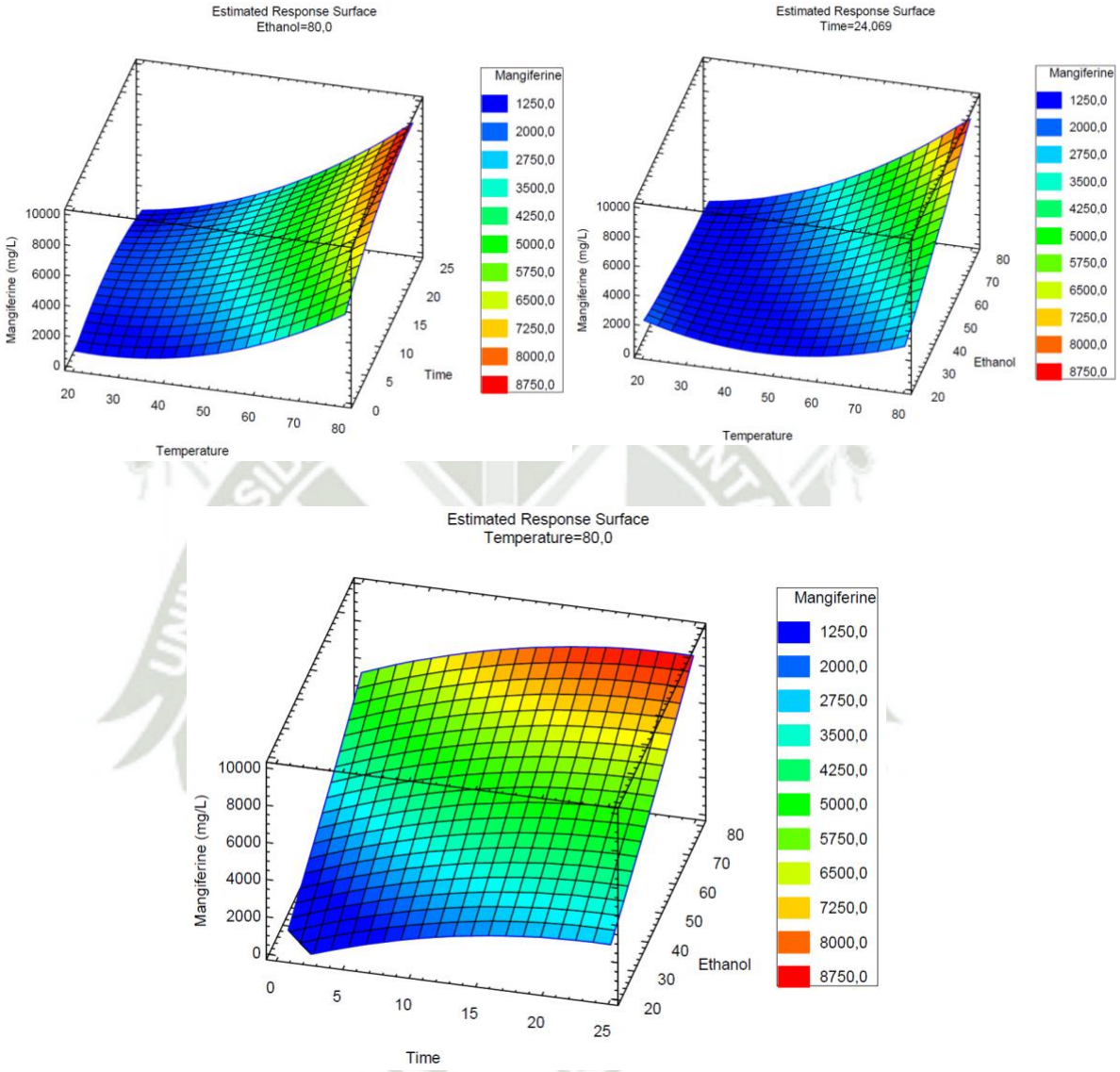


Figura 13. Gráficos de superficie de respuesta. Efecto de la temperatura, tiempo y porcentaje de etanol en la eficiencia de extracción de mangiferina.

Fuente: Elaboración Propia

3.9. Optimizado

Una vez que el programa nos dio los valores que deben ser utilizados para obtener la mayor cantidad de mangiferina, los cuales se pueden ver en la tabla 22.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM
UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

Tabla 22. Niveles optimizados de las variables estudiadas.

Variable	Nivel
Temperatura (˚C)	80
Concentración de etanol (%)	80
Tiempo (min)	24,069

Fuente: Elaboración propia.

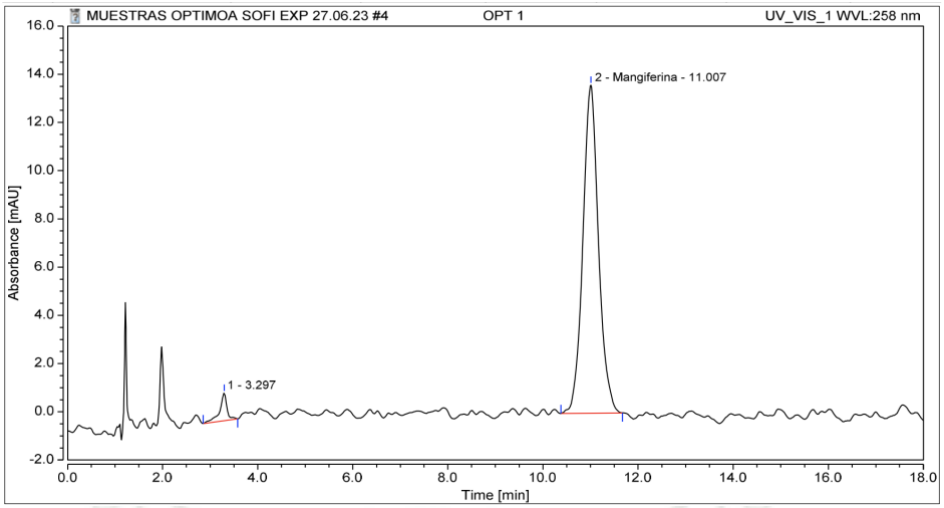
A diferencia de otros autores que reportaron que sus óptimos estaban en un rango de 5 a 20 minutos (4,6,40,56), el programa arrojo que a 24 minutos se debería obtener la mayor cantidad de mangiferina con esta combinación de niveles. Se realizo la extracción en una proporción de 1:20, pero cuidando que el volumen permaneciera constante, ya que con experimentos anteriores donde el tiempo fue de 25 minutos las muestras se secaban incluso en una proporción de 1:20 y estando en una concentración de etanol menor a 80%, por lo cual al trabajar con 80% y 80˚C y con un tiempo de extracción de 24 minutos se fue más cuidadoso al momento de la extracción para no secar el extracto, por tal motivo se utilizó un soporte con ayuda de tecnopor. Además, la proporción de 1:30 fue también escogida por otros autores (4). Una vez terminada la extracción, esta se filtró, se preparó la dilución y se procesó en el HPLC-RP donde se obtuvo una cantidad de mangiferina bastante considerable en comparación al máximo valor que se obtuvo al momento de hacer las repeticiones. Se realizaron 3 repeticiones, en donde se obtuvieron picos con tiempo de retención en el rango de 10 y 12 minutos como se observa en la figura 14, lo cual concuerda con el tiempo de retención que presento el pico del estándar de mangiferina, además se observaron otros picos al inicio de la corrida que pueden corresponder con isómeros de la mangiferina; isomangiferina y homomangiferina (56).

El mango criollo es una especie oriunda del Perú, el contenido fenólico nunca ha sido estudiado en esta variedad y esta depende mucho de las condiciones de crecimiento y el genotipo de la planta. Dependiendo de la especie, la forma en la que los polifenoles pueden unirse al tejido vegetal puede variar, generando diferentes efectos en la extracción tanto del tiempo como la temperatura (69).

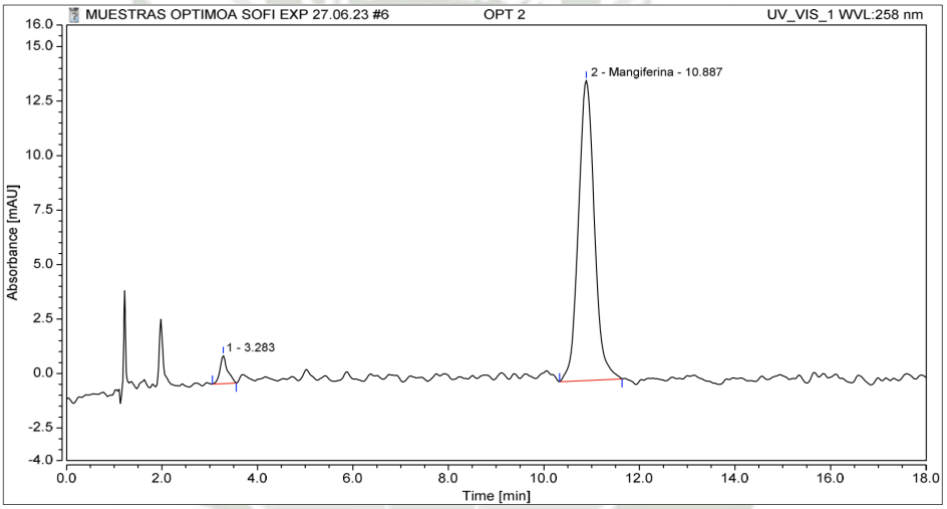
Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

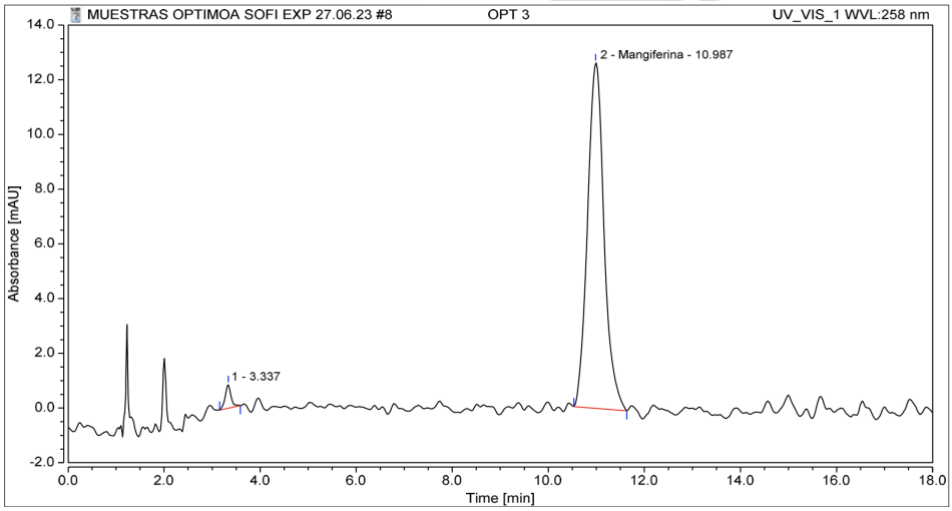
UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA



(a) Repetición 1



(b) Repetición 2



(c) Repetición 3

Figura 14. Cromatogramas del pico de mangiferina con parámetros optimizados.

(a), (b) y (c) picos obtenidos por cromatografía del triplicado que se realizó con los niveles óptimos.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

En la figura 14, se visualizan los cromatogramas de la extracción de mangiferina mediante las variables optimizados por triplicado para validar que estos sean reproducibles, se puede definir que el tiempo de retención de los picos varia 10,887, 10,987, 11,007 minutos, con variaciones entre 0,1 minutos y 0.02 minutos, Las absorbancias obtenidas varían entre 14 mAU y 13 mAU, la diferencia en 1 mAU, puede deberse a la secuencia de las muestras, al ser una a continuación de otra la aguja del sistema se puede ver afectada por un ineficiente lavado y llevar menos muestra que en las anteriores corridas, por lo que se recomienda para futuras experimentaciones, programar un lavado de mayor tiempo que el recomendado. Así mismo se observa en la línea base la presencia de ruido, esto puede deberse a que se está trabajando con un solvente orgánico, para la extracción de mangiferina.

Muestra 1

$$x * 50\ \mu L = 1000\ \mu L * \left(11.1965 \frac{mg}{L}\right)$$

$$x = 2239.3 \frac{mg}{L} * \frac{1L}{1000\ mL}$$

$$x = 2.2393 \frac{mg}{mL} * 11.6\ mL$$

$$x = 25.98 \frac{mg}{1g\ de\ muestra} = \mathbf{25.98\ mg\ de} \frac{\mathbf{mangiferina}}{\mathbf{g\ de\ muestra}}$$

Muestra 2

$$x * 50\ \mu L = 1000\ \mu L * \left(11.3355 \frac{mg}{L}\right)$$

$$x = 2267.1 \frac{mg}{L} * \frac{1L}{1000\ mL}$$

$$x = 2.2671 \frac{mg}{mL} * 13\ mL$$

$$x = \mathbf{29.47\ mg\ de} \frac{\mathbf{mangiferina}}{\mathbf{g\ de\ muestra}}$$

Muestra 3

$$x * 50\ \mu L = 1000\ \mu L * \left(10.8254 \frac{mg}{L}\right)$$

$$x = 2165.08 \frac{mg}{L} * \frac{1L}{1000\ mL}$$

$$x = 2.165 \frac{mg}{mL} * 12.9\ mL$$

$$x = \mathbf{27.93\ \ mg\ de} \frac{\mathbf{mangiferina}}{\mathbf{g\ de\ muestra}}$$

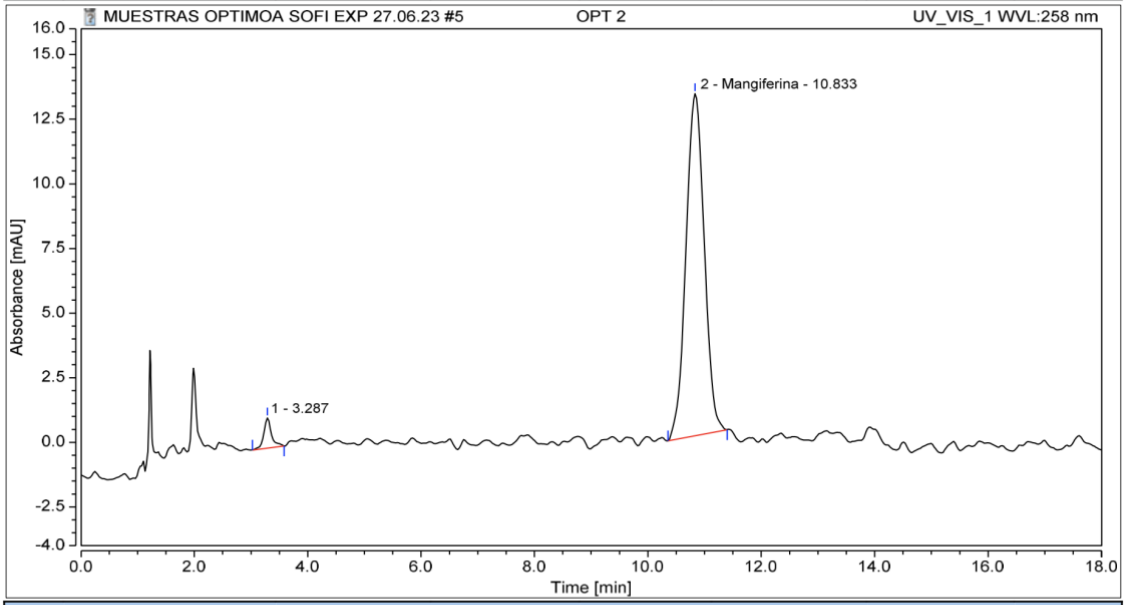
Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

En la figura 15 se observan diferentes características que el software utiliza para poder brindar el cromatograma. Tomando en cuenta el factor de dilución, se obtuvo una concentración promedio de 27.79 mg/g lo cual es 10 mg más que lo esperado respecto a la ecuación de segundo orden. En comparación con otros autores, la cantidad de mangiferina fue inferior, el mango que se utilizó para la experimentación es una especie oriunda del Perú por lo que en comparación con la especie Haden, siendo esta ultima la que reporta los valores más altos de mangiferina. La cantidad de mangiferina puede incrementarse cuando el extracto se deja secar con las mismas condiciones que el equipo muestra como optimas, al eliminar casi todo el solvente concentramos la muestra. La figura 15 muestra el tiempo de retención, el área del pico, el peso (absorbancia), el área relativa, el peso relativo y la concentración, y gracias a la curva de calibración ingresada en el software, el software realiza las ecuaciones necesarias para dar como resultado la concentración del pico resultante.

Chromatogram



Integration Results

No.	Peak Name	Retention Time min	Area mAU*min	Height mAU	Relative Area %	Relative Height %	Amount
1		3.287	0.187	1.174	3.64	8.14	n.a.
2	Mangiferina	10.833	4.948	13.239	96.36	91.86	10.6293
Total:			**5.135**	**14.413**	**100.00**	**100.00**	

Figura 15. Resultados reportados por el cromatógrafo

Fuente: Elaboración propia

3.10. Ensayo FT-IR

Después de hacer un barrido espectral para identificar los grupos funcionales de la muestra, podemos observar que existen picos (cm^{-1}) en 3421, que corresponde al grupo funcional de fenoles, 2924 y 2857 (C-H), 1722 (C=O), 1254 (C-O-C), 1093 (O-H).

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

Podemos comparar con el espectro en la figura 17, que es un espectro de mangiferina con KBr, se obtuvieron los picos (cm^{-1}) en: 3397 (OH, fenoles), 3182 (C=H), 2902 (C-H), 1649 (C=O), 1256, 1195 (C-O-C), 1095 (O-H, deformación). Los resultados son reflejo de las oscilaciones intrínsecas de los enlaces de mangiferina en la molécula (73).

El espectro obtenido por microscopia infrarroja guarda relación con el espectro de mangiferina obtenido previamente por otros autores (59,60).

Como se observa en la figura 16, la mangiferina es un xantano C-glucosídico, con presencia de grupos aromáticos tiene una ruta biosintética como punto de origen del ácido shikimato, e intermediarios a aminoácidos aromáticos (74).

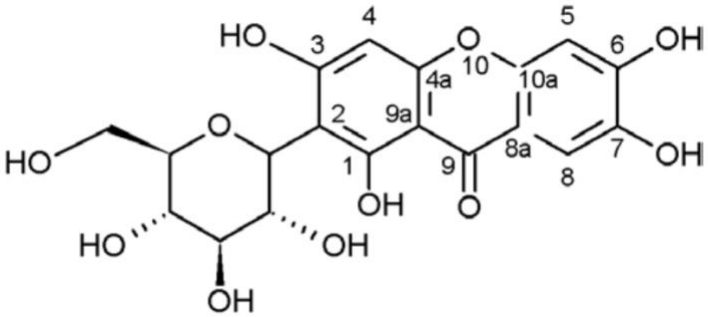
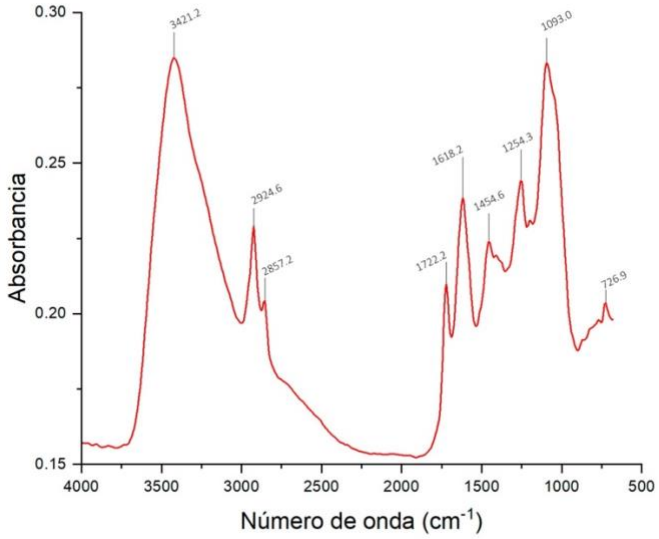


Figura 16. Estructura química de la mangiferina

Fuente: Matkowski y Kús (74)

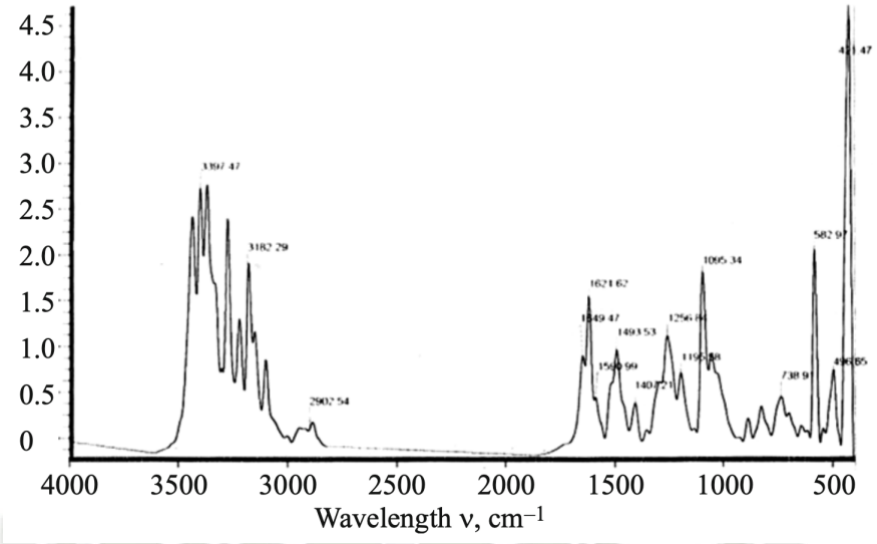


(a)

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA



(b)

Figura 17. Espectro IF de mangiferina

(a) Espectro infrarrojo obtenido por el microscopio Nicolet – Summit. (b) Espectro de mangiferina obtenido de Vo y Nguyen (73)

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

CAPITULO IV

4.1 CONCLUSIONES

- Primero, en conclusión, se observa que las variables operativas para el proceso de extracción de mangiferina por ultrasonido fueron la temperatura, el tiempo y la concentración de etanol con niveles de 20, 50 y 80˚C; 5,15 y 25 minutos: y 20, 50 y 80% respectivamente.
- Segundo, se realizó un diseño experimental de superficie de respuesta – Box Behnken, con 15 experimentos por triplicado, mostrando que tanto la temperatura como la concentración de etanol tienen un efecto estadísticamente positivo cuando estos se trabajan a 80˚C y a 80%, en cuanto al tiempo, se observó que este no es significativo en el proceso por lo que su valor se estableció en 24 minutos.
- Tercero, se evaluó la interacción de las variables operativas en el proceso donde se observó que la temperatura y la concentración de etanol actúan sinérgicamente para aumentar el rendimiento de mangiferina, así mismo independientemente estas también mejoran el rendimiento. Sin embargo, el tiempo no trabaja sinérgicamente pero tampoco tiene un efecto antagonista, donde se observa que el tiempo no influye en el proceso.

RECOMENDACIONES

- Primero, se recomienda a futuros investigadores estudiar la concentración de mangiferina en otras partes del mango como la cáscara, pulpa y semillas.
- Segundo, se recomienda estudiar otros biocomponentes presentes en el mango, como acido gálico y quercetina. El mango peruano posee mayor cantidad de proteínas en comparación de otros tipos de mango a nivel mundial, por lo que sería conveniente buscar futuros utilidades que este pueda tener.
- Tercero, se recomienda explorar la renovación de solvente en ciclos como estrategia para incrementar la recuperación total. Además, se recomienda que, en caso de aplicarse, se combine con sistemas de recuperación para mantener la sostenibilidad ambiental del proceso.
- Cuarto, se recomiendo purificar la mangiferina obtenida para poder estudiar las bondades que esta presenta, sobre todo en el ámbito oncológico. Lo cual no se pudo realizar, al ser otra línea de investigación.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Barrientos Felipa P. La agricultura peruana y su capacidad de competir en el mercado internacional. Equidad y Desarrollo [Internet]. 2018 Jul 2 [cited 2022 Feb 11];(32):143–79. Available from: https://doi.org/10.19052/ed.5056
2. El Peruano, Economía [Internet]. 2021 [cited 2022 Jan 17]. Midagri: Productores de mango exportaron más de 232,000 toneladas en campaña 2020-2021. Available from: https://elperuano.pe/noticia/122638-midagri-productores-de-mango-exportaron-mas-de-232000-toneladas-en-campana-2020-2021
3. Gómez G, Guzmán O. Alternativas de valorización para el residuo de Mango (Mangifera indica L.) mediate el uso de biotecnología tradicional. [Internet]. Universidad Libre Seccional Barranquilla; 2019 [cited 2022 Jan 17]. Available from: https://repository.unilibre.edu.co/bitstream/handle/10901/17819/8641709.pdf?sequence=1&isAllowed=y
4. Zou T Bin, Xia EQ, He TP, Huang MY, Jia Q, Li HW. Ultrasound-assisted extraction of mangiferin from mango (Mangifera indica L.) leaves using response surface methodology. Molecules [Internet]. 2014 Feb [cited 2022 Jan 18];19(2):1411–21. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24473205/
5. Morales M, Zapata K, Sagaste CA, Angulo AA, Rojano B. Optimization of the ultrasound-assisted extraction of polyphenol, mangiferin, and its antioxidant expression in mango peel (Mangifera Indica) using response surface methodology. Acta Sci Pol Technol Aliment [Internet]. 19(1):5–14. Available from: http://dx.doi.org/10.17306/J.AFS.2020.0733
6. Borrás-Enríquez AJ, Reyes-Ventura E, Villanueva-Rodríguez SJ, Moreno-Vilet L. Effect of ultrasound-assisted extraction parameters on total polyphenols and its antioxidant activity from mango residues (Mangifera indica L. var. manililla). Separations [Internet]. 2021 Jul 1 [cited 2022 Jan 18];8(7). Available from: https://www.mdpi.com/2297-8739/8/7/94
7. Tharanathan RN, Yashoda HM, Prabha TN. Mango (Mangifera indica L.), "the king of fruits" - An overview [Internet]. Vol. 22, Food Reviews International. 2006 [cited 2023 Feb 26]. p. 95–123. Available from: https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/87559120600574493
8. Kumar M, Saurabh V, Tomar M, Hasan M, Changan S, Sasi M, et al. Mango (Mangifera indica l.) leaves: Nutritional composition, phytochemical profile, and health-promoting bioactivities [Internet]. Vol. 10, Antioxidants. MDPI; 2021 [cited 2022 Jan 18]. p. 1–23. Available from: https://www.mdpi.com/2076-3921/10/2/299
9. Lebaka VR, Wee YJ, Ye W, Korivi M. Nutritional composition and bioactive compounds in three different parts of mango fruit [Internet]. Vol. 18, International Journal of

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

Environmental Research and Public Health. MDPI AG; 2021 [cited 2022 Jan 18]. p. 1–20. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33467139/

10. Yadav D, Singh Yadav K, Singh Professor S, Deependra Yadav C, Singh S. Mango: Taxonomy and botany. ~ 3253 ~ Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry [Internet]. 2018 [cited 2023 Feb 26];7(2). Available from: https://www.phytojournal.com/archives/2018.v7.i2.4027/mango-taxonomy-and-botany
11. Mukherjee SK, Litz RE. Introduction: Botany and Importance . In: Litz RE, editor. The Mango: Botany, Production and Uses [Internet]. 2nd ed. Cambridge : CAB International ; 2009 [cited 2023 Feb 26]. p. 1–19. Available from: https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=3Pq9wzuje1MC&oi=fnd&pg=PR5&dq=mango+botany&ots=iUqujKnU3V&sig=EWk7N9rGe7ybaXY1ILzqxkHQ3SY#v=onepage&q=mango%20botany&f=false
12. Kole Chittaranjan, Hall TC, Litz RE. Mango. In: Compendium of transgenic crop plants: Transgenic Tropical and Subtropical Fruits and Nuts . Wiley-Blackwell; 2008. p. 163–71.
13. Jahurul MHA, Zaidul ISM, Ghafoor K, Al-Juhaimi FY, Nyam KL, Norulaini NAN, et al. Mango (Mangifera indica L.) by-products and their valuable components: A review [Internet]. Vol. 183, Food Chemistry. Elsevier Ltd; 2015 [cited 2023 Feb 26]. p. 173–80. Available from: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814615004094
14. Ben-Othman S, Jõudu I, Bhat R. Bioactives from agri-food wastes: Present insights and future challenges [Internet]. Vol. 25, Molecules. MDPI AG; 2020 [cited 2022 Jan 18]. Available from: https://www.mdpi.com/1420-3049/25/3/510
15. Pan J, Yi X, Zhang S, Cheng J, Wang Y, Liu C, et al. Bioactive phenolics from mango leaves (Mangifera indica L.). Ind Crops Prod [Internet]. 2018 Jan 1 [cited 2022 Jan 18];111:400–6. Available from: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0926669017307434
16. Maldonado-Celis ME, Yahia EM, Bedoya R, Landázuri P, Loango N, Aguillón J, et al. Chemical Composition of Mango (Mangifera indica L.) Fruit: Nutritional and Phytochemical Compounds [Internet]. Vol. 10, Frontiers in Plant Science. Frontiers Media S.A.; 2019 [cited 2022 Jan 18]. Available from: https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2019.01073/full
17. Deshpande AB, Chidley HG, Oak PS, Pujari KH, Giri AP, Gupta VS. Data on changes in the fatty acid composition during fruit development and ripening of three mango cultivars (Alphonso, Pairi and Kent) varying in lactone content. Data Brief. 2016 Dec;9:480–91.
18. Ribeiro SMR, Schieber A. Bioactive compounds in mango (Mangifera indica L.). In: Bioactive Foods in Promoting Health [Internet]. Elsevier Inc.; 2010 [cited 2022 Jan 18].

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

p. 507–23. Available from: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780123746283000347

19. Tacias-Pascacio VG, Castañeda-Valbuena D, Fernandez-Lafuente R, Berenguer-Murcia Á, Meza-Gordillo R, Gutiérrez LF, et al. Phenolic compounds in mango fruit: a review. Journal of Food Measurement and Characterization [Internet]. 2022 Feb 20 [cited 2023 Feb 26];16(1):619–36. Available from: https://link.springer.com/10.1007/s11694-021-01192-2
20. Redacción Gestión. Diario Gestión, Economía . 2018 [cited 2022 Jan 17]. APEM: Perú es el tercer mayor exportador de mangos en el mundo. Available from: https://gestion.pe/economia/apem-peru-tercer-mayor-exportador-mangos-mundo-241593-noticia/?ref=gesr
21. Yahia EM. Mango (Mangifera indica L.). 2011.
22. FAO. International Trade Major Tropical Fruits: Preliminary results 2021 [Internet]. Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2022 [cited 2023 Feb 26]. Available from: https://www.fao.org/3/cb9412en/cb9412en.pdf
23. Coral LLT, Escobar-Garcia HA. Characterization of fruits of varieties of mango (Mangifera indica) conserved in Peru. Rev Bras Frutic [Internet]. 2021 [cited 2023 Feb 26];43(2). Available from: http://pgc-snia.inia.gob.pe:8080/jspui/handle/20.500.12955/1340
24. Peruanas CE, De D. Mango: Dirección general de Políticas. 2017.
25. Caballero J. Potencial Alimentario de Productos obtenidos a partir de residuos Industriales de Mango (Mangifera Indica) [Internet]. Universidad Nacional de Trujillo; 2019 [cited 2022 Jan 17]. Available from: http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/14878
26. MINCETUR. Perfil del Mercado y Competitividad Exportadora de Mango [Internet]. 2006 [cited 2022 Jan 17]. Available from: https://www.mincetur.gob.pe/wp-content/uploads/documentos/comercio_exterior/plan_exportador/publicaciones/Mango.pdf
27. MINAGRI. Mango: Dirección General de Políticas Agrarias. 2017.
28. Fresh Fruit: Expertos en inteligencia comercial [Internet]. 2021 [cited 2022 Jan 17]. ¿Qué se espera de la campaña de mango? Available from: https://freshfruit.pe/2020/10/11/que-se-espera-de-la-campana-de-mango/
29. Castro-Vargas HI, Vivas DB, Barbosa JO, Medina SJM, Gutiérrez FA, Parada-Alfonso F. Bioactive phenolic compounds from the agroindustrial waste of Colombian mango cultivars 'sugar mango' and 'tommy atkins'—An alternative for their use and valorization. Antioxidants [Internet]. 2019 Feb 1 [cited 2022 Jan 18];8(2). Available from: https://www.mdpi.com/2076-3921/8/2/41

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

30. Núñez-Sellés AJ, Abril-González AJ, Ramil-Mesa M. PROMANCOA modular technology for the valorization of mango (Mangifera indica L.) and cocoa (theobroma cacao L.) agricultural biowastes. Processes [Internet]. 2021 Aug 1 [cited 2022 Jan 18];9(8). Available from: https://www.mdpi.com/2227-9717/9/8/1312

31. Sekar M. Molecules of Interest – Mangiferin – A Review. Annu Res Rev Biol. 2015 Jan 10;5(4):307–20.

32. Kasi Viswanadh E, Nageshwar Rao B, Satish Rao BS. Antigenotoxic effect of mangiferin and changes in antioxidant enzyme levels of Swiss albino mice treated with cadmium chloride. Hum Exp Toxicol. 2010 May;29(5):409–18.

33. Núñez Selles AJ, Daglia M, Rastrelli L. The potential role of mangiferin in cancer treatment through its immunomodulatory, anti-angiogenic, apoptopic, and gene regulatory effects. Vol. 42, BioFactors. Blackwell Publishing Inc.; 2016. p. 475–91.

34. Vyas A, Syeda K, Ahmad A, Padhye S, Sarkar FH. Perspectives on Medicinal Properties of Mangiferin. Vol. 12, Reviews in Medicinal Chemistry. 2012.

35. Saha S, Sadhukhan P, Sil PC. Mangiferin: A xanthonoid with multipotent anti-inflammatory potential. Vol. 42, BioFactors. Blackwell Publishing Inc.; 2016. p. 459–74.

36. Telang M, Dhulap S, Mandhare A, Hirwani R. Therapeutic and cosmetic applications of mangiferin: A patent review. Vol. 23, Expert Opinion on Therapeutic Patents. 2013. p. 1561–80.

37. Lerma-Torres JM, Navarro-Ocaña A, Calderón-Santoyo M, Hernández-Vázquez L, Ruiz-Montañez G, Ragazzo-Sánchez JA. Preparative scale extraction of mangiferin and lupeol from mango (Mangifera indica L.) leaves and bark by different extraction methods. J Food Sci Technol [Internet]. 2019 Oct 1 [cited 2022 Jan 18];56(10):4625–31. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31686694/

38. García-Mahecha M, Soto-Valdez H, Carvajal-Millan E, Madera-Santana TJ, Lomelí-Ramírez MG, Colín-Chávez C. Bioactive Compounds in Extracts from the Agro-Industrial Waste of Mango [Internet]. Vol. 28, Molecules. MDPI; 2023 [cited 2023 Feb 26]. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9823791/

39. Acosta Esquijarosa JI, Salomón Izquierdo SI, Sevilla Fernández II, Nuevas Paz III L. Empleo del ultrasonido para la extracción de fracción apolar en hojas de Mangifera indica L. (árbol del mango) Use of ultrasound for extraction of the apolar fraction in leaves of Mangifera indica L. (mango tree) [Internet]. Vol. 21, Revista Cubana de Plantas Medicinales. 2016. Available from: http://scielo.sld.cu

40. Castañeda-Valbuena D, Ayora-Talavera T, Luján-Hidalgo C, Álvarez-Gutiérrez P, Martínez-Galero N, Meza-Gordillo R. Ultrasound extraction conditions effect on antioxidant capacity of mango by-product extracts. Food and Bioproducts Processing

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

[Internet]. 2021 May 1 [cited 2022 Jan 18];127:212–24. Available from: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960308521000468

41. Martínez-Ramos T, Benedito-Fort J, Watson NJ, Ruiz-López II, Che-Galicia G, Corona-Jiménez E. Effect of solvent composition and its interaction with ultrasonic energy on the ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from Mango peels (Mangifera indica L.). Food and Bioproducts Processing [Internet]. 2020 Jul 1 [cited 2022 Jan 18];122:41–54. Available from: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S096030851930742 4?via%3Dihub
42. Segatto ML, Zanotti K, Zuin VG. Microwave-assisted extraction and matrix solid-phase dispersion as green analytical chemistry sample preparation techniques for the valorisation of mango processing waste. Current Research in Chemical Biology. 2021;1:100007.
43. Lough WJ, Wainer IW, editors. High Performance Liquid Chromatography: Fundamental Principles and Practice [Internet]. 1st ed. Springer Dordrecht; 1996 [cited 2023 Feb 26]. 1–288 p. Available from: https://link.springer.com/book/9789401105989
44. Dong MW. The Essence of Modern HPLC: Advantages, Limitations, Fundamentals, and Opportunities . LGCC North America [Internet]. 2013 [cited 2023 Feb 26];31(6):472–9. Available from: https://www.chromatographyonline.com/view/essence-modern-hplc-advantages-limitations-fundamentals-and-opportunities
45. Ashraf A I, van de Voort FR, Sedman J. Chapter 4 Fourier transform infrared spectroscopy: Principles and applications. In 1997. p. 93–139.
46. Huck CW. Advances of infrared spectroscopy in natural product research. Phytochem Lett. 2015 Mar;11:384–93.
47. Altemimi A, Lakhssassi N, Baharlouei A, Watson D, Lightfoot D. Phytochemicals: Extraction, Isolation, and Identification of Bioactive Compounds from Plant Extracts. Plants. 2017 Sep 22;6(4):42.
48. Mohamed MA, Jaafar J, Ismail AF, Othman MHD, Rahman MA. Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy. In: Membrane Characterization. Elsevier; 2017. p. 3–29.
49. Sasidharan S, Chen Y, Saravanan D, Sundram KM, Latha LY. Extraction, Isolation, Characterization of Compounds from Plant's extracts. Vol. 8, Afr J Tradit Complement Altern Med. 2011.
50. Roselló-Soto E, Galanakis CM, Brnčić M, Orlien V, Trujillo FJ, Mawson R, et al. Clean recovery of antioxidant compounds from plant foods, by-products and algae assisted by ultrasounds processing. Modeling approaches to optimize processing conditions. Trends Food Sci Technol. 2015 Apr;42(2):134–49.
51. Núñez S, Valero MS, Mustafa AM, Caprioli G, Maggi F, Gómez-Rincón C, et al. Ultrasound-assisted extraction *versus* </scp> traditional Soxhlet apparatus for the

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

obtention of polyphenols, carotenoids and tocopherols from *Tagetes erecta* L. flowers. J Sci Food Agric. 2025 Apr 23;105(6):3453–62.

52. Tamminen J, Holappa J, Vladimirovich Gradov D, Koiranen T. Scaling up continuous ultrasound-assisted extractor for plant extracts by using spinach leaves as a test material. Ultrason Sonochem. 2022 Nov;90:106171.
53. Lauceri R, Pignataro M, Giorgi A, Idà A, Kamburska L. Pilot-Scale Phycocyanin Extraction by the Green Two-Step Ultrasound-Based UltraBlu Process. Separations. 2025 Jul 25;12(8):194.
54. Dias ALB, de Aguiar AC, Rostagno MA. Extraction of natural products using supercritical fluids and pressurized liquids assisted by ultrasound: Current status and trends. Ultrason Sonochem. 2021 Jun;74:105584.
55. Kulkarni V, Rathod V. Green Process for Extraction of Mangiferin from Mangifera indica Leaves. Journal of Biologically Active Products from Nature. 2016 Nov 1;6(5–6):406–11.
56. Loan NTT, Long DT, Yen PND, Hanh TTM, Pham TN, Pham DTN. Purification process of mangiferin from mangifera indica l. Leaves and evaluation of its bioactivities. Processes [Internet]. 2021 [cited 2022 Jan 18];9(5). Available from: https://www.mdpi.com/2227-9717/9/5/852
57. Vo THT, Nguyen TD, Nguyen QH, Ushakova NA. Extraction of Mangiferin from the Leaves of the Mango Tree Mangifera indica and Evaluation of its Biological Activity in Terms of Blockade of α-glucosidase. Pharm Chem J. 2017 Dec 1;51(9):806–10.
58. Tayana N, Inthakusol W, Duangdee N, Chewchinda S, Pandith H, Kongkiatpaiboon S. Mangiferin content in different parts of mango tree (Mangifera indica L.) in Thailand. Vol. 41, Songklanakarin J. Sci. Technol. 2019.
59. Alara OR, Abdul Mudalip SK, Olalere OA. Optimization of mangiferin extrated from Phaleria macrocarpa fruits using response surface methodology. J Appl Res Med Aromat Plants [Internet]. 2017 May 1 [cited 2022 Feb 11];5:82–7. Available from: https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2017.02.002
60. Kullu J, Dutta A, Constales D, Chaudhuri S, Dutta D. Experimental and modeling studies on microwave-assisted extraction of mangiferin from Curcuma amada. 3 Biotech [Internet]. 2014 Apr [cited 2022 Feb 11];4(2):107–20. Available from: https://link.springer.com/article/10.1007/s13205-013-0125-5
61. Ojeda GA, Sgroppo SC, Sánchez Moreno C, de Ancos Siguero B. Mango 'criollo' by-products as a source of polyphenols with antioxidant capacity. Ultrasound assisted extraction evaluated by response surface methodology and HPLC-ESI-QTOF-MS/MS characterization. Food Chem [Internet]. 2022 Dec 1 [cited 2023 Mar 7];396. Available from: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814622017009?via%3Dihub

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

62. Sistema Integrado de Estadística Agraria. Ministerio de Desarrollo Agrario y Riego. 2021 [cited 2023 Apr 3]. Perú: Calendario de siembra de mango. Available from: https://siea.midagri.gob.pe/portal/calendario/

63. Kulkarni VM, Rathod VK. Extraction of mangiferin from Mangifera indica leaves using three phase partitioning coupled with ultrasound. Ind Crops Prod. 2014;52:292–7.

64. Ramírez NM, Farias LM, Santana FA, Leite JPV, Dantas MIDS, Toledo RCL, et al. Extraction of mangiferin and chemical characterization and sensorial analysis of teas from mangifera indica l. Leaves of the ubá variety. Beverages [Internet]. 2016 Dec 1 [cited 2022 Jan 18];2(4). Available from: https://www.mdpi.com/2306-5710/2/4/33

65. Kobus Z, Buczaj A, Pecyna A, Kapica J, Findura P, Kocira S. Application of Response Surface Method in Pulsed Ultrasound-Assisted Extraction of Complex Plant Materials—A Case Study on Cannabis sativa L. Applied Sciences (Switzerland) [Internet]. 2023 Jan 1 [cited 2023 Apr 2];13(2). Available from: https://www.mdpi.com/2076-3417/13/2/760

66. Ngo T V., Scarlett CJ, Bowyer MC, Vuong Q V. Isolation and Maximisation of Extraction of Mangiferin from the Root of Salacia chinensis L. Separations. 2019 Sep 5;6(3):44.

67. Saifullah M, McCullum R, McCluskey A, Vuong Q. Comparison of conventional extraction technique with ultrasound assisted extraction on recovery of phenolic compounds from lemon scented tea tree (Leptospermum petersonii) leaves. Heliyon. 2020 Apr;6(4):e03666.

68. Anbalagan K, Kumar MM, Ilango K, Mohankumar R, Priya RL. Prelusive scale extraction of mangiferin from Mangifera indica leaves: Assessing solvent competency, process optimization, kinetic study and diffusion modelling. Ind Crops Prod [Internet]. 2019 Nov 15 [cited 2022 Jan 18];140. Available from: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0926669019307137

69. Antony A, Farid M. Effect of Temperatures on Polyphenols during Extraction [Internet]. Vol. 12, Applied Sciences (Switzerland). MDPI; 2022 [cited 2023 Apr 3]. Available from: https://www.mdpi.com/2076-3417/12/4/2107

70. Palanikumar K, Davim JP. Electrical discharge machining: study on machining characteristics of WC/Co composites. In: Machining and machine-tools. Elsevier; 2013. p. 135–68.

71. Kim JH, Choi I. Choosing the Level of Significance: A Decision-theoretic Approach. Abacus. 2021 Mar 14;57(1):27–71.

72. Bajpai S, Gupta SK, Dey A, Jha MK, Bajpai V, Joshi S, et al. Application of Central Composite Design approach for removal of chromium (VI) from aqueous solution using weakly anionic resin: Modeling, optimization, and study of interactive variables. J Hazard Mater. 2012 Aug;227–228:436–44.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

73. Vo THT, Nguyen TD, Nguyen QH, Ushakova NA. Extraction of Mangiferin from the Leaves of the Mango Tree Mangifera indica and Evaluation of its Biological Activity in Terms of Blockade of α-glucosidase. Pharm Chem J. 2017 Dec 1;51(9):806–10.

74. Matkowski A, Ku P, Góralska E, Woniak D. Mangiferin – a Bioactive Xanthonoid, not only from Mango and not just Antioxidant. Vol. 13. 2013.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis