



**BENEMÉRITA UNIVERSIDAD  
AUTÓNOMA DE PUEBLA**



**FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA  
COLEGIO DE INGENIERÍA EN ALIMENTOS**

**“OBTENCIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS DE CÁSCARAS  
DE MANGO MANILA (*MANGIFERA INDICA L.*) MEDIANTE  
LIXIVIACIÓN ASISTIDA CON ULTRASONIDO DE ALTA  
INTENSIDAD Y SU POTENCIAL APLICACIÓN COMO  
BIOHERBICIDA”.**

**TESIS**

**PARA OBTENER EL GRADO DE:  
LICENCIADO EN INGENIERÍA EN ALIMENTOS**

**PRESENTA  
JUAN PABLO TORRES MARTÍNEZ**

**DIRECTORAS DE TESIS**

**DRA. EDITH CORONA JIMÉNEZ**  
FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA  
BENÉMERITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

**DRA. TANIA MARTÍNEZ RAMOS**  
PROGRAMA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA  
UNIVERSIDAD POLITÉCNICA METROPOLITANA DE PUEBLA

**PUEBLA, PUE. NOVIEMBRE 2025**



**BUAP**

Oficio No. FIQ/AC/099/2024

Asunto: Registro de Tema de Tesis.

**C. JUAN PABLO TORRES MARTÍNEZ**  
PASANTE DE LA LICENCIATURA EN  
INGENIERÍA EN ALIMENTOS  
P R E S E N T E:

Por medio del presente me permito informarle, de la aprobación del Registro de Tema de Tesis de la Licenciatura en Ingeniería en Alimentos cuyo título es el siguiente:

**“Evaluación del potencial bioherbicida de extractos obtenidos de cáscara de mango manila (*Mangifera indica* L.) mediante la lixiviación asistida con ultrasonido de alta intensidad”**

Con el siguiente contenido:

INTRODUCCIÓN

CAPÍTULO 1	ANTECEDENTES
CAPÍTULO 2	METODOLOGÍA
CAPÍTULO 3	RESULTADOS Y DISCUSIÓN

CONCLUSIONES  
BIBLIOGRAFÍA

Directora de Tesis: Dra. Edith Corona Jiménez.

Co-Directora: Dra. Tania Martínez Ramos.

Lo cual me permito comunicarle para su conocimiento y fines consiguientes aclarando que la vigencia de este tema será **UNICAMENTE POR UN AÑO.**

Atentamente  
“Pensar Bien, Para Vivir Mejor”  
H. Puebla de Z., a 13 de mayo de 2024

**Dra. Valeria Jordana González Coronel**  
Secretaria Académica

C.c.p. Directora de Tesis: Dra. Edith Corona Jiménez.

C.c.p. Co-Directora: Dra. Tania Martínez Ramos.

C.c.p. Archivo.

Facultad  
de Ingeniería  
Química

Av. San Claudio s/n, Col. San  
Manuel, Ciudad Universitaria,  
Puebla, Pue. C.P. 72590  
01 (222) 229 55 00  
Exts. 7250 y 7251



# Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

## FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA

### CIUDAD UNIVERSITARIA

**Juan Manuel Rosas Tapia**  
Director de Administración Escolar de la BUAP  
Presente

ASUNTO:  
**AUTORIZACIÓN**  
**IMPRESIÓN DE TESIS**

Por este conducto me permito presentar a Ud. al C. pasante de la carrera de Ingeniería en Alimentos:

**Juan Pablo Torres Martínez**

Quién presenta como tema de registro de Tesis:

**Obtención de compuestos fenólicos de cáscaras de mango manila (*Mangifera indica* L.) mediante lixiviación asistida con ultrasonido de alta intensidad y su potencial aplicación como bioherbicida**

La cual ha sido debidamente revisada y se autoriza para su impresión correspondiente.

Sin otro particular y para los fines que se estimen conducentes reitero mi distinción.

ATENTAMENTE

**“Pensar Bien, para Vivir Mejor”**

H. Puebla de Z., a 05 de noviembre de 2025

Directoras de Tesis

**Dra. Edith Corona Jiménez**

**Dra. Tania Martínez Ramos**



**BUAP**

Oficio No. FIQ/DI/735/2025

Asunto: Modalidad de Titulación por Examen Profesional por Tesis

**Mtro. Juan Manuel Rosas Tapia**  
**Director de Administración Escolar de la BUAP**  
**Presente:**

At'n: Psic. Marcela Juárez Zenteno  
Jefa del Departamento de Titulación

Por este medio, me permito hacer de su conocimiento que el alumno:

Nombre completo del alumno: **JUAN PABLO TORRES MARTÍNEZ**  
Matrícula: **201245488**  
Sustentante de la Carrera en: **Ingeniería en Alimentos**  
Fecha de Examen Profesional: **Miércoles 19 de noviembre 2025 9:00 horas Presencial.**

JURADO:

NOMBRE	CARGO
Dra. María Lorena Luna Guevara	Presidente
Dra. María de Lourdes Ruiz Peralta	Secretario
Dra. Edith Corona Jiménez	Vocal

**NOTA: ESTE DOCUMENTO TIENE VIGENCIA POR 6 MESES A PARTIR DE LA FECHA DE SU EXPEDICIÓN.**

Sin otro particular, le reitero las seguridades de mi atenta y distinguida consideración.

Atentamente  
"Pensar Bien, Para Vivir Mejor"  
H. Puebla de Z., a 30 de octubre de 2025

**M.I.C. Ma. Gpe. Tita Vázquez Espinosa de los Angeles**  
**Directora**



C.c.p. Archivo.

Facultad  
de Ingeniería  
Química

Av. San Claudio s/n, Col. San  
Manuel, Ciudad Universitaria,  
Puebla, Pue. C. P. 72590  
(222) 229 55 00  
Exts. 7250 y 7251

# AGRADECIMIENTOS

A la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, a la Facultad de Ingeniería Química y al Cuerpo Académico Consolidado BUAP - CA 176 “Innovación en Tecnología para el Desarrollo de Procesos Alimentarios”, debido a que la presente tesis se desarrolló dentro de sus instalaciones.

A la Vicerrectoría de Investigación y Estudios de Posgrado de la BUAP, por la beca otorgada por medio del Programa “*Aprovechamiento de subproductos del sector agrario a través de una extracción sostenible y su potencial uso en la cadena productiva agroalimentaria*” (ID 00459 - PV/2024), el cual se realizó bajo la dirección de la Dra. Edith Corona Jiménez.

A mi directora de tesis, la Dra. Edith Corona Jiménez, por permitirme formar parte de su equipo de trabajo, por su constante disposición para atender y resolver mis dudas, y por enriquecer mi formación académica mediante su experiencia y los conocimientos compartidos. Agradezco profundamente la confianza, el apoyo y la paciencia que me brinda, asimismo por guiar en todo momento el desarrollo de este trabajo. Admiro sinceramente su dedicación, disciplina y calidad humana.

A mi asesora de tesis, la Dra. Tania Martínez Ramos, por el valioso apoyo brindado y por mantener siempre una actitud positiva ante cada duda que surgía, así como por la confianza depositada en mí durante el desarrollo del presente trabajo. Expreso también mi reconocimiento por su amabilidad, compromiso y disposición, cualidades que manifestó desde el primer día.

Asimismo extiendo mi agradecimiento a la Universidad Politécnica Metropolitana de Puebla por haber sido parte fundamental en la realización y desarrollo de este proyecto.

A los miembros del jurado, la Dra. María Lorena Luna Guevara y a la Dra. María de Lourdes Ruiz Peralta, por las valiosas aportaciones realizadas a este trabajo, así como por el tiempo y la dedicación empleados en su revisión y en la emisión de observaciones que contribuyeron significativamente al fortalecimiento del documento final.

Expreso mi gratitud al Dr. Carlos Alberto Lobato Tapia, por su disposición y buena actitud ante cada inquietud que surgió durante el desarrollo del presente trabajo. Su valioso conocimiento y experiencia fueron fundamentales para la realización de

esta investigación. Expreso mi agradecimiento por el apoyo brindado en el uso del equipo y en la aplicación de las técnicas necesarias para el desarrollo del acoplamiento molecular.

Extiendo mi más sincero agradecimiento al Dr. Gregorio Romero de la Vega, a la Mtra. Ramzi Mellado Pumarino y al personal administrativo del Instituto de Diseño e Innovación Tecnológica (Universidad Iberoamericana, Puebla), por las facilidades otorgadas para el acceso a sus laboratorios y por la capacitación proporcionada en el uso del equipo especializado. Además, expreso mi reconocimiento al Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada por el préstamo de sus espectrómetros y la valiosa asesoría brindada durante el desarrollo de este trabajo.

A Dios, por acompañarme en cada momento de este proceso, por darme salud, claridad y perseverancia para alcanzar esta meta. Dedico este trabajo a la memoria de mi padre Francisco, gracias por tu amor, ejemplo, apoyo y enseñanzas, aunque ya no estás físicamente, sigues presente en mi corazón y en cada uno de mis logros. Su recuerdo me impulsa cada día a esforzarme y alcanzar mis metas. Este trabajo es un reflejo de los valores que me enseñó y una manera de honrar su legado. Esta tesis está dedicada a tu memoria, con todo mi amor y gratitud.

De igual forma quiero a mi madre Margarita, por su amor, paciencia y apoyo. Gracias por creer en mí incluso cuando yo dudaba, por tus palabras de aliento y por acompañarme en cada paso de este camino. Este logro también es tuyo, fruto de tus enseñanzas y del todo esfuerzo que siempre hiciste por mí. Igualmente, quiero agradecer a mi tío Rodolfo, por su constante apoyo, confianza y por estar presente en cada etapa de este proceso. Su generosidad y aliento fueron fundamentales para que pudiera culminar con éxito esta meta.

Quisiera agradecer a todas las personas que formaron parte de mi trayectoria durante la licenciatura, en especial a mis profesores, quienes fueron pilares fundamentales en mi formación académica y personal. A mis compañeros y amigos de generación, por los momentos compartidos que enriquecieron esta etapa. Asimismo, expreso mi agradecimiento a los integrantes del grupo de trabajo de la Dra. Edith Corona Jiménez, en particular a Hiroshi, por su valioso apoyo y amistad, y por contribuir a un ambiente de colaboración y cordialidad durante el desarrollo de esta TESIS.

Finalmente, quiero agradecer a mis amigos Lety, Mary, Dalette, Lidia, Luis David, Carlos Iván "Chaparrito", Paco, Rodo y José por su apoyo, compañía y palabras de

aliento a lo largo de esta etapa. Su amistad ha sido un pilar fundamental que me ayudó a mantener la motivación y superar los desafíos durante la realización de este trabajo.

De igual manera, expreso mi reconocimiento a Santiago Cruz, cuya música fue un susurro cómplice en este proceso, recordándome que la esperanza siempre encuentra su momento y que nos esperan tiempos mejores; que cada esfuerzo, por pequeño que parezca, forma parte de un intento constante por alcanzar los propios sueños; y que la alegría de estar vivos hace que todo valga la pena. Sus letras me enseñaron también que todos tenemos cicatrices, huellas de lo vivido que nos recuerdan de dónde venimos y cuánto hemos crecido. A todos ellos, y a quienes de distintas maneras contribuyeron en la culminación de esta etapa, les expreso mi más sincero agradecimiento por su presencia, apoyo e inspiración.

# RESUMEN

El desarrollo y uso de herbicidas obtenidos a partir de fuentes naturales, como lo pueden ser los subproductos generados por la industria agrícola y de alimentos, ha tomado relevancia los últimos años, debido al creciente interés por reducir el impacto ambiental que generan los herbicidas de origen químico. El objetivo del presente trabajo fue obtener extractos fenólicos de cáscaras de mango manila mediante lixiviación asistida con ultrasonido de alta intensidad y determinar su aplicación como posible bioherbicida.

Se estableció una metodología que consta de una etapa preliminar y tres etapas principales.

En la etapa preliminar se realizó la preparación y estandarización de la materia prima, minimizando así los cambios en las características físicas, químicas y fisiológicas de la cáscara. En la primera etapa se llevó a cabo la optimización del proceso de extracción de compuestos fenólicos, con y sin aplicación de ultrasonido de alta intensidad (UAI). Para ello se empleó un diseño experimental  $3^2$ , en el cual se evaluó el efecto del tiempo (10 a 30 min) y temperatura de extracción (20 a 60°C), sobre el contenido fenólico total (CFT) y actividad antioxidante (AA) de los extractos agua y etanol de cáscara de mango, con y sin aplicación del UAI. El CFT y su AA se cuantificó a través de los ensayos Folin-Ciocalteu y ABTS respectivamente. El mayor CFT fue obtenido cuando el UAI fue aplicado, de  $4411.05 \pm 9.96$  mg GAE/100 g m.s. (10 min, 20°C) y de  $4027.21 \pm 158.01$  mg GAE/100 g m.s. (20 min, 20 °C), para los extractos de agua y etanol, respectivamente. La AA reportada fue de  $116.36 \pm 0.31$  mg TROLOX/100 g m.s. (30 min, 20°C) y de  $120.27 \pm 158.01$  mg TROLOX/100 g m.s. (10 min, 20 °C).

En la segunda etapa se identificaron los compuestos fenólicos presentes en las cáscaras de mango, por medio de la técnica de Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC), a partir de los extractos óptimos. Los cromatogramas obtenidos detectaron la presencia de ácido gálico y quercetina.

En la última etapa se evaluó la actividad bioherbicida de los extractos de mango sobre la germinación de semillas de pasto, por medio de un ensayo *in vitro*. De acuerdo con el ensayo realizado se pudo determinar que los extractos obtenidos mostraron una reducción del 40 % en la germinación con respecto a las muestras

control. Por último, se identificó el posible mecanismo de acción de los compuestos fenólicos (ácido gálico y quercetina) presentes en el extracto sobre la enzima acetohidroxiácido sintasa (AHAS) a través de acoplamiento molecular (Docking) de cada una de las estructuras. El acoplamiento permitió observar que la energía de afinidad, de cada uno de los compuestos fenólicos identificados, mostraron un valor de  $-6.1$  kcal/mol y  $-8.6$  kcal/mol, para el ácido gálico y quercetina, respectivamente; el compuesto control (metilsulfometuron), el cual es un activo principal en herbicidas sintéticos, presentó un valor estándar de  $-6.9$  kcal/mol. Con los valores anteriores, de acuerdo con el acoplamiento molecular es posible determinar que los compuestos presentes en cáscaras de mango (*Mangifera indica* L. cv manila), son capaces de lograr la inhibición del crecimiento de malezas, considerándose un posible ingrediente activo para el desarrollo de bioherbicidas.

# ABSTRACT

The development and use of herbicides derived from natural sources, such as by products generated by the agricultural and food industries, have gained increasing relevance in recent years due to the growing interest in reducing the environmental impact caused by synthetic herbicides. The objective of the present study was to obtain extracts of phenolic compounds from Manila mango peels through high-intensity ultrasound-assisted leaching and to determine their potential application as bioherbicides.

A methodology consisting of a preliminary stage and three main stages was established.

In the preliminary stage, the raw material was prepared and standardized, thereby minimizing variations in the physical, chemical, and physical characteristics of the peel. In the first stage, the extraction process of phenolic compounds was optimized, both with and without the application of high intensity ultrasound (HIU). A 3 experimental design was employed to evaluate the effect of extraction time (10 - 30min) and extraction temperature (20 - 60°C) on tache total phenolic content of (TPC) and antioxidant activity (AA) of water and ethanol extracts from mango peels, with and without HIU application. TPC and AA were quantified using the Folin – Ciocalteu and ABTS assays, respectively. The highest TPC was obtained when HIU applied, reaching  $4411.05 \pm 9.96$  mg GAE/100 g d.w. (10 min, 20°C) and  $4027.21 \pm 158.01$  mg GAE/100 g d.w. (20 min, 20 °C), reaching for the water and ethanol extracts, respectively. The reported AA was  $116.36 \pm 0.31$  mg TROLOX/100 g d.w. (30 min, 20°C) and  $120.27 \pm 158.01$  mg TROLOX/100 g d.w. (10 min, 20 °C).

In the second stage, the phenolic compounds present in mango peels were identified using High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) from the optimal extracts. The chromatograms obtained detected the presence of gallic acid and quercetin.

In the final stage, the bioherbicidal activity of the mango extracts was evaluated on the germination and/or growth of grass seeds through an in vitro assay. According to the test performed, it was determined that the obtained extracts showed a 40 % reduction in germination compared to the control samples. Finally, the possible mechanism of action of the phenolic compounds (gallic acid, and quercetin) present

in the extract was identified on the enzyme acetohydroxyacid synthase (AHAS) through molecular docking of each structure.

The docking results showed that the binding energy values for the identified phenolic compounds were -6.1 kcal/mol and -8.6 kcal/mol for gallic acid and quercetin, respectively; the control compound (metsulfuron-methyl), which is an active ingredient in synthetic herbicides, exhibited a standard value of -6.9 kcal/mol. Based on these results, molecular docking suggests that the compounds present in Manila mango (*Mangifera indica* L. cv. Manila) peels are capable of inhibiting weed growth, and thus may be considered potential active ingredients for the development of bioherbicides.

# ÍNDICE

<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b>	<b>V</b>
<b>ÍNDICE DE TABLAS</b>	<b>VI</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>2</b>
<b>I ANTECEDENTES</b>	<b>3</b>
1.1 Malezas . . . . .	3
1.1.1 Control de malezas . . . . .	4
1.2 Plaguicidas . . . . .	6
1.2.1 Modo de acción de los plaguicidas . . . . .	9
1.3 Herbicidas . . . . .	11
1.3.1 Clasificación de los herbicidas . . . . .	11
1.3.2 Bioherbicidas . . . . .	13
1.3.3 Acetohidroxiácido sintasa . . . . .	14
1.4 Subproductos de la agroindustria y su poder fitoquímico . . . . .	14
1.5 Compuestos fenólicos . . . . .	15
1.5.1 Clasificación de los compuestos fenólicos . . . . .	15
1.5.1.1 Flavonoides . . . . .	16
1.5.1.2 No Flavonoides . . . . .	16
1.6 Actividad Antioxidante . . . . .	17
1.7 Mango . . . . .	18
1.7.1 Composición química y nutricional del mango . . . . .	19
1.8 Lixiviación de compuestos fenólicos . . . . .	21
1.9 Generalidades del Ultrasonido . . . . .	24
1.10 Actividad bioherbicida de los compuestos fenólicos . . . . .	25
1.10.1 Acoplamiento molecular (Docking) . . . . .	28

<b>II OBJETIVOS E HIPÓTESIS</b>	<b>30</b>
2.1 Objetivo general . . . . .	30
2.2 Objetivos específicos . . . . .	30
2.3 Hipótesis . . . . .	30
<b>III METODOLOGÍA</b>	<b>31</b>
3.1 Plan de trabajo . . . . .	31
3.2 Reactivos . . . . .	33
3.3 Preparación de la materia prima . . . . .	33
3.3.1 Determinación de acidez . . . . .	33
3.3.2 Sólidos totales disueltos . . . . .	34
3.3.3 Índice de madurez . . . . .	34
3.4 Procesos de extracción . . . . .	34
3.4.1 Método de extracción convencional por agitación (ECV) . . .	34
3.4.2 Método de extracción asistido con ultrasonido de alta intensidad (EAU) . . . . .	34
3.5 Cuantificación del contenido de compuestos fenólicos totales (CFT) y su actividad antioxidante (AA) . . . . .	35
3.5.1 CFT . . . . .	35
3.5.2 Método ABTS . . . . .	35
3.6 Diseño experimental . . . . .	36
3.7 Identificación de compuestos por Cromatografía Capilar de Líquidos de Alta Resolución (HPLC) . . . . .	36
3.8 Evaluación del poder bioherbicida . . . . .	37
3.8.1 Preparación del Medio Control para Cultivo <i>In Vitro</i> . . . . .	37
3.8.2 Lavado y Cultivo de Semillas . . . . .	37
3.8.3 Acoplamiento molecular . . . . .	38
3.9 Análisis estadístico . . . . .	38
<b>IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	<b>39</b>
4.1 Caracterización de la materia prima . . . . .	39
4.2 Optimización del proceso de extracción con y sin ultrasonido . . . . .	40
4.2.1 Extracción de CFT con agua y etanol . . . . .	40
4.2.2 Evaluación de la Actividad Antioxidante . . . . .	43

4.2.3	Superficie de respuesta de etanol con y sin ultrasonido . . . . .	46
4.2.3.1	Compuestos fenólicos convencional y con ultrasonido para etanol . . . . .	46
4.2.3.2	Actividad antioxidante convencional y con ultrasonido . . . . .	47
4.2.4	Superficie de respuesta de agua con y sin ultrasonido . . . . .	50
4.2.4.1	Compuestos fenólicos convencional y con ultrasonido	50
4.2.4.2	Actividad antioxidante convencional y con ultrasonido . . . . .	52
4.3	Caracterización del extracto e identificación de compuesto fenólicos presentes . . . . .	54
4.4	Inhibición de la germinación de semillas de pasto . . . . .	60
4.4.1	Cultivos In vitro . . . . .	60
4.4.2	Acoplamiento Molecular (Docking molecular) . . . . .	61
<b>V</b>	<b>CONCLUSIONES</b>	<b>65</b>
	<b>Bibliografía</b>	<b>67</b>

# ÍNDICE DE FIGURAS

1.1	Clasificación de malezas por tipo de hoja . . . . .	4
1.2	Representación de cultivares de mango con diferente grado de maduración . . . . .	19
1.3	Cavitación acústica . . . . .	25
3.1	Plan de Trabajo . . . . .	32
4.1	Gráficos de superficie de respuesta del modelo de regresión cuadrática y su ajuste que muestran el efecto del tiempo y temperatura sobre el CFT de los extractos de etanol de cáscara de mango mediante extracción convencional (A y B) y asistida con ultrasonido. (C y D) . . .	47
4.2	Gráficos de superficie de respuesta del modelo de regresión cuadrática y su ajuste que muestran el efecto del tiempo y temperatura sobre la AA de los extractos de etanol de cáscara de mango mediante extracción convencional (A y B) y asistida con ultrasonido (C y D). . . .	49
4.3	Gráficos de superficie de respuesta del modelo de regresión cuadrática y su ajuste que muestran el efecto del tiempo y temperatura sobre el CFT de los extractos de agua de cáscara de mango mediante extracción convencional (A y B) y asistida con ultrasonido (C y D). . . .	51
4.4	Gráficos de superficie de respuesta del modelo de regresión cuadrática y su ajuste que muestran el efecto del tiempo y temperatura sobre la AA de los extractos de agua de cáscara de mango mediante extracción convencional (A y B) y asistida con ultrasonido (C y D). . . . .	53
4.5	Estructura molecular y cromatogramas del ácido gálico (A) y de los extractos . . . . .	57
4.6	Espectros HPLC Quercetina . . . . .	59

4.7	Germinación de semillas de pasto en respuesta al efecto del extracto de cáscaras de mango . . . . .	61
4.8	Representación en 2 y 3 dimensiones de las interacciones entre el ligando y el receptor para: a) Quercetina y b) Ácido gálico . . . . .	64

# ÍNDICE DE TABLAS

1.1	Clasificación de plaguicidas según su toxicidad . . . . .	7
1.2	Clasificación de los plaguicidas según su vida media útil . . . . .	9
1.3	Principales plaguicidas y su modo de acción . . . . .	10
1.4	Compuestos Bioactivos en Mango . . . . .	21
1.5	Composición fenólica y actividad biológica del mango ( <i>Mangifera indica</i> ) a partir de diferentes métodos de extracción . . . . .	27
3.1	Factores y niveles del diseño experimental . . . . .	36
4.1	Caracterización físico-química de la matriz externa del mango Manila en estado fresco . . . . .	39
4.2	CFT obtenidos a partir de extracción con y sin ultrasonido . . . . .	43
4.3	AA obtenidos a partir de extracción con y sin ultrasonido . . . . .	45
4.4	Compuestos fenólicos (mg/100 de muestra seca) identificados en la cáscaras de mango manila de las condiciones óptimas de extracción. . . . .	55
4.5	Afinidad de unión e interacción de aminoácidos . . . . .	62

# INTRODUCCIÓN

En un contexto de creciente presión sobre la producción de alimentos, es crucial entender cómo la demanda alimentaria se verá afectada por el aumento poblacional y los desafíos del cambio climático. De acuerdo a la Organización de la Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), se prevé que la producción agrícola y alimentaria crezca solo 1.1 % anual en la próxima década, lo que plantea serias preocupaciones sobre el rendimiento de los cultivos. Las plagas y las condiciones ambientales adversas se convierten en amenazas significativas que pueden comprometer la seguridad alimentaria (FAO,2023).

Para mitigar estas amenazas, el uso de plaguicidas se presenta como una solución esencial ya que permite controlar la proliferación de plagas y enfermedades disminuyendo así las pérdidas en la producción. No obstante, la aplicación de plaguicidas conlleva riesgos significativos, especialmente para aquellos agricultores que carecen de información adecuada sobre su uso. A pesar de que estos productos han contribuido a aumentar la producción agrícola, su uso indiscriminado puede afectar la salud humana y los sistemas socioambientales.

En México, el Catálogo Oficial de Plaguicidas de la Comisión Federal para la Protección Contra Riesgos Sanitarios (COFEPRIS) autoriza más de 180 ingredientes activos de plaguicidas considerados altamente peligrosos (COFEPRIS, 2024). Este panorama resalta la necesidad de un enfoque más consciente y responsable en la gestión de plaguicidas, garantizando la seguridad alimentaria sin comprometer la salud de las personas ni el equilibrio ambiental.

El uso de plaguicidas obtenidos a partir de fuentes y/o residuos generados por la agricultura, son de gran importancia para la reducción de aquellos que son fabricados a partir de fuentes químicas y sintéticas, ya que estos ocasionan grandes daños en el medio ambiente, así como daños para las personas que tienen contacto con este tipo de productos.

Dentro de los plaguicidas, los herbicidas son aquellos cuya función es el controlar plagas como el crecimiento de hierbas y malezas, las cuales pueden ser competencia de los nutrientes en los cultivos. Los herbicidas pueden ser sintéticos o naturales, estos últimos son productos generados a partir de organismos vivos o metabolitos

naturales de estos también llamados como bioherbicidas, estos ofrecen una solución prometedora para el control de malezas sin dañar el medio ambiente.

Actualmente han surgido estudios que indican que algunos compuestos presentes en las plantas presentan una actividad inhibitora específica contra el crecimiento de las malezas, pero sin causar un daño perjudicial a los cultivos, ciertas especies de plantas tienen entre sus componentes, diversos metabolitos secundarios, como lo son; los alcoholes, ácidos grasos, fenoles, flavonoides, terpenoides y esteroides, los cuales pueden reducir la reproducción, crecimiento y desarrollo de la vegetación adyacente incluidas todas las especies de malezas.

No obstante se busca que la creación u obtención de estos bioherbicidas se desarrolle de manera ecológica y sustentable mediante el uso de tecnologías que permitan una mayor obtención y rendimiento de los compuestos fitoquímicos de interés. Para ello, los procesos de obtención como la lixiviación, requieren ser mejorados y asistidos con nuevas tecnologías para lograr un mejor rendimiento de extracción y calidad de los compuestos fitoquímicos.

El uso de técnicas asistidas como el ultrasonido de alta intensidad es de gran ayuda al momento de realizar dicha lixiviación de los compuestos antes mencionados. Esta técnica se basa en la propagación de ondas mecánicas conformadas por un conjunto de ciclos, definidos como la combinación de altas y bajas presiones. Varios trabajos han reportado la extracción de compuestos fitoquímicos con el uso del ultrasonido, la optimización de la extracción de estos compuestos es esencial, y tecnologías como la lixiviación asistida por ultrasonido presenta oportunidades para mejorar tanto el rendimiento como la calidad de los bioherbicidas. Este enfoque no solo podría reducir la dependencia de plaguicidas sintéticos, sino también contribuir a prácticas agrícolas más sostenibles y respetuosas con el medio ambiente. A medida que exploramos estas alternativas, es fundamental considerar el equilibrio entre la productividad agrícola y la salud del ecosistema.

# I. ANTECEDENTES

## 1.1. Malezas

Uno de los principales problemas en la producción de alimentos es la presencia de malezas en los cultivos agrícolas, estas son plantas que crecen en áreas no deseadas; compiten con los cultivos por recursos como agua, luz y nutrientes. Generalmente, se consideran indeseables debido a la capacidad que tienen para proliferar rápidamente ocasionando afectaciones en la producción agrícola, su manejo juega una parte esencial en la agricultura sostenible e implica el uso de diversas estrategias, las cuales van desde métodos biológicos hasta la aplicación de herbicidas. Incluyen a las plantas arvenses (crecen entre cultivos, especialmente en los anuales), y ruderales (se desarrollan en otros tipos de ambiente perturbados, como orillas de parcelas o vías de comunicación, alrededor de asentamientos humanos o en plantaciones perennes), así como plantas no deseadas en ambientes acuáticos y forestales (Rojas & Vibrans, 2004).

Las malezas también son un recurso valioso, ya que pueden ayudar en el control de plagas y enfermedades al mantener una población equilibrada de insectos benéficos. Además, contribuyen a sostener la población de polinizadores. Estas plantas también facilitan la movilización de nutrientes en el suelo y lo protegen contra la erosión, a la vez que aumentan la cantidad de materia orgánica y mejoran su estructura (Gerowitt *et al.*, 2017).

Las malezas se pueden clasificar de distintas maneras; sin embargo, una de las formas más sencillas es según el tipo de hoja que presenten ( Figura 1.1; planta de hoja ancha (dicotiledóneas) y plantas de hoja angosta (monocotiledóneas) . Otra manera de clasificación de las malezas es por medio de su ciclo de vida.

- Anuales: Son aquellas malezas que completan su ciclo de vida en máximo un año.
- Bianuales: Su ciclo de vida se desarrolla en máximo dos años. En el primer año se logra el crecimiento vegetativo y la producción de semillas como la floración de la planta se logra durante su segundo año de vida

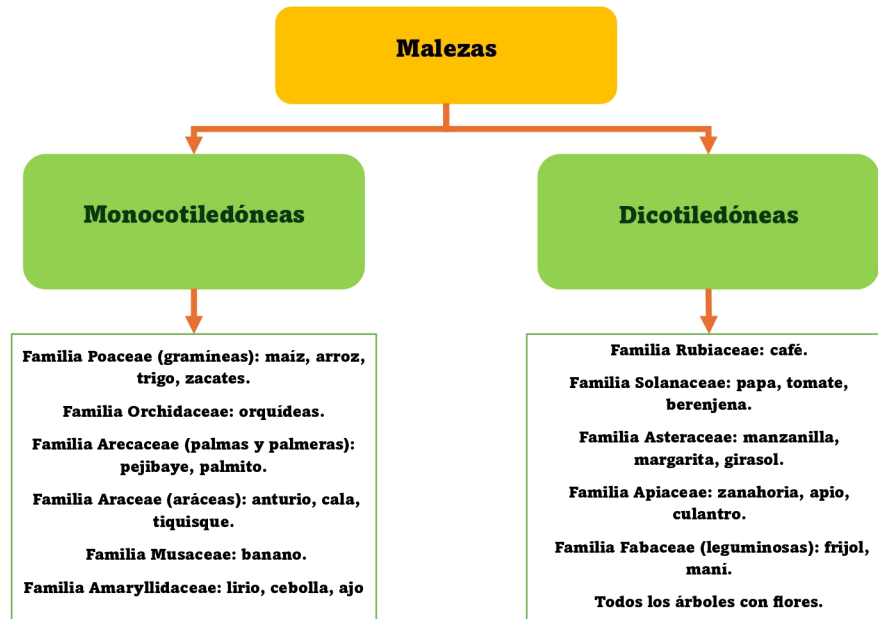


Figura 1.1. Clasificación de malezas por tipo de hoja

- Perennes: Son plantas que tienen una vida de dos o más años, que florecen y generan semillas sin morir tras su ciclo de reproducción. Pueden clasificarse como herbáceas o leñosas (Santos Cruz, 2018).

### 1.1.1. Control de malezas

Como parte de la gestión para lograr un adecuado rendimiento en la productividad de los cultivos, es deseable alcanzar el control de malezas, ya que estas además de competir por los recursos básicos de los cultivos, pueden albergar plagas o enfermedades, lo que agrava más la salud de los cultivos. Para lograr mitigar estos problemas es necesario implementar estrategias para reducir su presencia, pero sin causar un daño al cultivo. Existen diversas técnicas de control de malezas, entre los que se encuentran los métodos; preventivos, químicos, físicos, biológicos y culturales, cada uno con sus ventajas y limitaciones. Los diferentes tipos de control se

describen a continuación.

### **Método preventivo**

Se refiere a las acciones implementadas para evitar la introducción, establecimiento y crecimiento de maleza en áreas no contaminadas. Estas acciones incluyen el uso de semillas certificadas que no contengan semillas ni partes reproductivas de maleza, la eliminación de maleza en canales de riego y caminos, la limpieza de maquinaria agrícola utilizada en zonas infestadas, y la restricción del acceso de ganado proveniente de áreas con alta presencia de maleza a zonas libres. Otras medidas preventivas abarcan la siembra en terrenos sin maleza y el control de maleza antes de que florezca, con el fin de reducir el banco de semillas en el suelo. El control legal se considera una medida preventiva a nivel regional o nacional, sustentada en leyes adecuadas para alcanzar su propósito. (Alvarez Iglesias *et al.*, 2016; Cazares *et al.*, 2022)

### **Método químico**

Es una alternativa que se puede desarrollar en etapas tempranas, lo que garantiza la eliminación de la competencia desde el comienzo del crecimiento del cultivo. Para esto es necesario el uso de agentes químicos (herbicidas) que si son aplicados de manera adecuada, inhiben el desarrollo o provocan la muerte de la maleza. Otra ventaja de los herbicidas es que pueden proteger el cultivo de malezas durante el periodo crítico de competencia, gracias a su efecto residual. Además, el uso de herbicidas reduce los costos de producción, ya que permite mantener el cultivo libre de maleza con una única aplicación por ciclo, lo que contribuye a un mayor rendimiento (Hernández-Ríos *et al.*, 2022)

### **Método físico**

También conocido como método mecánico, se refiere a las practicas donde se encuentra involucrado la intervención de una fuerza sobre las malezas con el fin de evitar su proliferación. Las técnicas más usualmente empleadas son la escarda (manual, con azadón, el uso de cultivadores), el corte o poda o la aplicación de calor (flameo). Las técnicas mecánicas son efectivas contra malezas anuales, pero en el caso de las perennes solo logran retrasar su crecimiento. En cambio el control manual presenta desventajas como su alto costo y la lentitud en áreas donde ya hay una fuerte invasión de malezas perennes, por lo que se sugiere llevar a cabo este método

cuando la población de malezas es baja.(Alvarez Iglesias *et al.*, 2016; Pedreros, 2010)

### **Método biológico**

El control se da a partir de la utilización de organismos vivos con el objetivo de disminuir el desarrollo de las malezas, principalmente se recurre a emplear bacterias, hongos, insectos o animales herbívoros. Estas especies pueden encontrarse disponibles en el ecosistema o son introducidos por el humano para combatir su proliferación, esto sin que altere el equilibrio entre las partes involucradas en el ambiente.(Alvarez Iglesias *et al.*, 2016).

### **Método cultural**

El desafío radica en elegir y combinar las prácticas más adecuadas para cada situación agrícola, teniendo en cuenta factores como el tipo de cultivo, las condiciones climáticas y la resistencia de las malezas. El control adecuado no solo mejora los rendimientos de los cultivos, sino que también contribuye a la sostenibilidad de los sistemas agrícolas a largo plazo (Santos Cruz, 2018).

Incluye prácticas de manejo tales como (Pedreros, 2010):

- Diseños que incluyan rotaciones de cultivos durante todo el año.
- Favorecer la competencia del cultivo, mediante la elección de especie, cultivar, fechas de siembra, densidad de siembra.
- Labranza primaria: alternar profundidades.
- Preparación adecuada de la cama de semillas.
- Elección de genotipos de cultivos de rápida emergencia

## **1.2. Plaguicidas**

Los plaguicidas juegan un papel fundamental en la protección de los cultivos contra enfermedades, plagas de insectos y malezas. De acuerdo con el Código Internacional de Conducta Sobre la Distribución y Uso de Plaguicidas de la Food and Agriculture Organization (FAO) y de la World Health Organization (WHO) se define el término plaguicida como cualquier sustancia destinada a prevenir, destruir,

atraer, repeler o combatir cualquier plaga, incluidas las especies indeseadas de plantas o animales, durante la producción, almacenamiento, transporte, distribución y elaboración de alimentos, productos agrícolas o alimentos para animales, o que pueda administrarse a los animales para combatir ectoparásitos. El término incluye las sustancias destinadas a utilizarse como reguladores del crecimiento de las plantas, defoliantes, desecantes, agentes para reducir la densidad de fruta o inhibidores de la germinación, y las sustancias aplicadas a los cultivos antes o después de la cosecha para proteger el producto contra la deterioración, durante el almacenamiento y transporte. Los plaguicidas se pueden clasificar por su grupo químico, por su uso, toxicidad y vida media.(Organization *et al.*, 2010).

En 1978, la Organización Mundial de la Salud (OMS) estableció una clasificación de plaguicidas según su nivel de peligrosidad o toxicidad aguda, que se refiere a la capacidad de causar daño a la salud tras una o más exposiciones en un corto periodo. La toxicidad se mide mediante la dosis letal media (DL50) o la concentración letal media (CL50) como se muestra en la Tabla 1.1. Estos parámetros pueden variar según varios factores, como la forma del producto (sólido, gel, líquido, gas, polvo, etc.), la vía de entrada (oral, dérmica, respiratoria) y otros aspectos como la temperatura, la dieta, la edad y el sexo. Es importante tener en cuenta que, al basarse en estudios con animales, estos indicadores no ofrecen información sobre los efectos a largo plazo ni sobre la citotoxicidad de los compuestos (Ramírez & Lacasaña, 2001).

Tabla 1.1. Clasificación de plaguicidas según su toxicidad

Clase	Toxicidad	DL <sub>50</sub> empleado en rata	
		Oral	Dérmica
Ia	Sumamente peligroso	< 5	< 50
Ib	Muy peligroso	5 - 50	50 - 200
II	Moderadamente peligroso	50 - 2000	200 - 2000
III	Poco peligroso	Más de 2000	Más de 2000
U	Poco probable que presente un peligro agudo	5000 o más	< 5

Fuente FAO (2020)

Para la clasificación por su grupo químico (Badii & Varela, 2015; Doménech, 2004; Ramírez & Lacasaña, 2001) ésta definida de la siguiente forma:

- **Organoclorados:** Comprenden los compuestos clorados derivados del etano, entre cuyos compuestos se considera al DDT entre los más importantes; los derivados clorados de los ciclodienos, entre los que se encuentran, el clordano, aldrina, dieldrina, heptacloro, endrina, y toxafeno y los compuestos relacionados con el hexaclorociclohexano como el lindano. Generalmente actúan por contacto o por ingestión y tienen una mayor persistencia.
- **Organofosforados:** Son compuestos derivados a partir del ácido fosfórico. Tienen una persistencia más corta que los organoclorados para una mayor toxicidad a mamíferos. Pueden ser de contacto, sistémicos, fumigantes o estomacales. Ejemplos: dimetoato, fenitrotión, malatión monocrotofós, profenofós.
- **Carbamatos:** Son utilizados como insecticidas domésticos y agrícolas, herbicidas y fungicidas son menos tóxicos que los anteriores. Pertenecen a este grupo carbofurán, dimetoato, mobán, propoxur, etc. Todos ellos son relativamente inestables, se les atribuye un tiempo corto de persistencia ambiental y cuentan con cierta selectividad.
- **Piretroides:** Los piretroides son una mezcla diversa de principios activos, obtenidos fácilmente por la extracción con disolventes (metanol, acetona, etc.) de las flores secas del crisantemo (*Chrysanthemum cineræ folium*, conocidas anteriormente como *Pyrethrum*). La estructura básica se basa en el ácido crisantémico. Tiene una toxicidad más baja a mamíferos que los otros grupos, pero son tóxicos a los peces, reducen el apetito en los insectos. Ejemplos: cipermetrina, deltametrina, fenvalerato, lambda cihalotrina y permetrina.

La clasificación de los plaguicidas por su uso es (Tudi *et al.*, 2021):

- **Insecticidas:** Para el control de insectos.
- **Nematicidas:** Para el control de nematodos.
- **Bactericidas:** Para el control de bacterias.
- **Fungicidas:** Para el control de hongos.
- **Rodenticidas:** Para el control de roedores.
- **Herbicidas:** Para el control de hierbas y malezas.

Por su vida media, los plaguicidas se clasifican en permanentes, persistentes, moderadamente persistentes y no persistentes como se muestra en la Tabla 1.2

Tabla 1.2. Clasificación de los plaguicidas según su vida media útil

Persistencia	Vida media	Ejemplos
No persistente	De días hasta 12 semanas	Malatión, diazinón, carbarilo, diametrín
Moderadamente persistente	De 1 a 18 meses	Paratión, lannate
Persistente	De varios meses a 20 años	DDT, aldrín, dieldrín
Permanentes	Indefinidamente	Productos hechos a partir de mercurio, plomo, arsénico

Fuente. Obtenido de Ramírez & Lacasaña (2001)

### 1.2.1. Modo de acción de los plaguicidas

En un plaguicida, el componente que combate las plagas se denomina ingrediente activo. Los plaguicidas comerciales pueden incluir uno o más de estos ingredientes, así como diversas sustancias inactivas. Los ingredientes activos operan de múltiples maneras; por ejemplo, muchos insecticidas afectan el sistema nervioso de los insectos plaga, lo que les dificulta alimentarse o reproducirse. En algunos casos, la plaga no muere de inmediato a causa del producto, sino que acaba falleciendo por inanición. La Tabla 1.3 ilustra diferentes modos de acción de los plaguicidas en relación con una amplia gama de plagas (Wolansky, 2011).

Tabla 1.3. Principales plaguicidas y su modo de acción

Nombre genérico	Clase	Plaga	Modo de acción	Ejemplos
Insecticidas	Organofosforados	Insectos voladores, saltadores y caminadores	Alteración de la excitabilidad del sistema nervioso	Clorpirifos Metlazinofos,
	Carbamatos			Diazinon
	Piretroides			Carbaryl, Propoxfur
	Organoclorados			Deltametrina $\beta$ -ciflutrina DDT* Lindano*, Endosulfan*, Dieldrin*
Herbicidas	Inhibidores de la síntesis de biomoléculas	Malezas	Inhiben la síntesis de aminoácidos esenciales para la vida vegetal	Glifosato Glufosinato Atrazina, Linuron 2,4-D, Dicamba
	Otras clases			Interfieren otros procesos críticos para el desarrollo completo de la planta-maleza
Rodenticidas	Cumarínicos	Ratas, ratones y otros roedores silvestres	Inhiben la síntesis hepática de factores de coagulación sanguínea	Brodifacum, Cumatetrililo
	Indanedicionas,			Warfarina Clorfacinona
Fungicidas	Imidazoles, dicarboximidias, Pirimidinas, Piperazinas, Carbamatos, Amidas de arilo	Hongos, mohos	Desorganización de estructuras o funciones celulares esenciales para la supervivencia	Metalaxil, Vinclozolina Triadimefon

\*Productos actualmente prohibidos o de uso restringido por ser peligrosos para las personas aun en dosis bajas.  
Fuente:(Wolansky, 2011)

## 1.3. Herbicidas

La gran mayoría de las especies de malezas resistentes a los herbicidas se encuentran en los principales cultivos extensivos del mundo (canola, maíz, algodón, arroz y trigo). Las hierbas y malezas compiten con los cultivos durante el periodo de crecimiento reduciendo el rendimiento y la calidad de los cultivos. Para el control de estas, los agricultores utilizan principalmente herbicidas de origen químico, los cuales son capaces de alterar la fisiología de las hierbas y/o malezas provocando la muerte o desarrollo anormal de las mismas. Los herbicidas pueden ser clasificados de acuerdo con su época de aplicación, selectividad, tipo, familia química y modo de acción. La forma más útil de clasificación de los herbicidas es de acuerdo con su modo de acción. El modo de acción de un herbicida consiste en una serie de etapas que ocurren desde que este es absorbido por la planta hasta la aparición de la fitotoxicidad. Los procesos fisiológicos afectados por el modo de acción de los herbicidas en las plantas radican en la regulación del crecimiento, inhibición de la división celular, inhibición de la respiración y/o fotosíntesis e interrupción de procesos metabólicos complejos (Duke & Dayan, 2011). Entre los herbicidas de mayor uso comercial se encuentran las sulfonilureas, imidazolinonas y las triazolipirimidinas las cuales presentan un amplio espectro de objetivos en las plantas, controlando la mayoría de las malezas de hoja ancha y algunas gramíneas, el modo de acción de estos compuestos consiste en la inhibición de la síntesis de aminoácidos (acetohidroxiácido sintasa, AHAS), los aminoácidos son las unidades a partir de las cuales se forman las proteínas para el crecimiento y el desarrollo de la planta (Zhou *et al.*, 2007).

### 1.3.1. Clasificación de los herbicidas

La clasificación de los herbicidas es esencial para comprender cómo funcionan, sus aplicaciones y su impacto ambiental. Estos compuestos químicos se emplean para manejar o erradicar plantas no deseadas en cultivos, jardines y espacios urbanos. La clasificación puede realizarse según diferentes criterios, como su mecanismo de acción, selectividad, composición química y época de aplicación. (Robles & de la Cruz, 2006)

### **Por su composición química**

Esta se basa en la composición de los agentes activos usados como herbicida, de acuerdo a su familia química estos presentarán características similares y pueden tener el mismo mecanismo de acción. Algunos ejemplos de las principales familias químicas son los siguientes: Acetamidas, benzamidas, bipirilidos, carbamatos, cloroacetamidas, dinitrofenoles, fenil-pyridazinas,imidazolinonas,nitrilos, oxadiazoles,piridinas, sulfonilureas,tiadizoles, triazinas, triazolipirimidinas, ureas (Alvaro, 2007).

### **Por su época de aplicación**

De acuerdo a su época de aplicación los herbicidas pueden clasificarse como de presembrado (PS), preemergentes (PRE) y postemergentes (POST). Los herbicidas presembrado se clasifican en PS foliares y PS al suelo, los PS foliares se utilizan en algunos sistemas como sustitutos de la labranza primaria para controlar la maleza presente en el cultivo. Los PS al suelo se utilizan antes de la siembra y requieren ser aplicados a cierta profundidad del suelo para así evitar la degradación por la luz o su volatilización, estos herbicidas tienen poca solubilidad en agua.

Los herbicidas PRE son aplicados posterior a la siembra, pero antes de que la maleza o el cultivo comiencen a crecer, estos herbicidas requieren de riego o lluvia para que logren penetrar en la tierra alrededor de 5 cm, así ocasionando la inhibición de la maleza durante su germinación.

Los herbicidas POST se aplican cuando el cultivo o maleza ya se encuentran fuera de la tierra, se debe aplicar cuando la maleza se encuentra en su inicio de desarrollo, ya que es más fácil combatirla debido a que no presenta una fuerte competencia con el cultivo.(Robles & de la Cruz, 2006)

### **Por su mecanismo de acción**

- Inhibidores de la síntesis de lípidos.
- Inhibidores de la síntesis de aminoácidos.
- Inhibidores del crecimiento de plántulas.

- Reguladores del crecimiento.
- Inhibidores de la fotosíntesis.
- Inhibidores de la síntesis de pigmentos.
- Destruidores de las membranas celulares.

### **Por su selectividad**

- Selectivo: Son aquellos que a dosis adecuadas eliminan ciertas plantas, pero sin causar daño significativo a las otras, un ejemplo es la atrazina que es selectivo para cultivos de maíz y sorgo.
- No selectivo: Son aquellos que dañan a cualquier clase de vegetación por lo que se deben aplicar en terrenos no cultivados, un ejemplo es el glifosato.

### **1.3.2. Bioherbicidas**

En los últimos años, algunos productos naturales han comenzado a ser considerados para ser un ingrediente fundamental para el control de malezas y con ello el desarrollo de nuevos herbicidas. Estos herbicidas son denominados como bioherbicidas, los cuales se pueden definir como productos que se originan de organismos vivos o de los metabolitos naturales de estos y que se usan para controlar poblaciones de malezas sin causar daños al ambiente (Bailey, 2014; Radhakrishnan *et al.*, 2018). Principalmente el organismo más común que se utiliza es un hongo, por tanto el término micoherbicida es el más empleado en estos productos. A pesar de considerarse una alternativa significativa en el control de malezas, son más empleados como un agente complementario en el control de malezas, y no como un reemplazo de los herbicidas químicos (Pacanoski, 2015).

Los bioherbicidas se pueden clasificar como:

- Desarrollados a partir de extractos vegetales, microorganismos fitopatógenos y fitotoxinas microbianas.
- Bioherbicidas preparados a partir de compuestos alelopáticos o aleloquímicos.

### 1.3.3. Acetohidroxiácido sintasa

La acetohidroxiácido sintasa, AHAS es la encargada de realizar la catalización como primer paso en la biosíntesis de los aminoácidos de cadena ramificada valina, leucina e isoleucina en plantas y microorganismos (Powles & Yu, 2010). Esta enzima condensa dos moléculas de piruvato para formar  $\text{CO}_2$  y 2 - acetolactato, siendo este el precursor de la formación de valina y leucina. La AHAS también puede desarrollar la misma reacción con el piruvato y 2 - Ketobutirato, para formar  $\text{CO}_2$  acetohidroxibutirato, que es el precursor para la formación de isoleucina (Duggleby & Pang, 2000). La enzima AHAS requiere Dinucleótido de flavina (FAD), tiamina-pirofosfato (TPP), y magnesio (Mg) o Manganeseo (Mn) para lograr su actividad, produciendo hidroxietil - TPP (HETPP) como producto intermedio. La AHAS presenta una forma tetramérica. Los inhibidores de AHAS bloquean esta vía, causando problemas en el crecimiento, marchitez del meristemo, generando posteriormente la muerte de la maleza (Sun *et al.*, 2021). Existen dos formas de AHAS en las cadenas ramificadas de las plantas superiores. Cada uno tiene sensibilidad a estas cadenas y a las sustancias inhibitorias de AHAS presentes en los bioherbicidas (Le *et al.*, 2005). Entre el grupo de herbicidas inhibidores de AHAS las sulfonilureas (SUs), han sido altamente utilizados debido a su alto control contra las malezas, baja tasa residual y su amplia selectividad de cultivos (Guo *et al.*, 2022). No obstante, a pesar de los efectos positivos que presentan en la agricultura, los herbicidas causan efectos adversos notables en el medio ambiente y salud humana debido a su alta persistencia y toxicidad, por lo cual es deseable desarrollar herbicidas con alta selectividad, baja toxicidad, bajas tasas de aplicación, además de que sean económicos y amigables con el medio ambiente (Alvaro, 2007; Krumsri *et al.*, 2021; Qu *et al.*, 2021).

## 1.4. Subproductos de la agroindustria y su poder fitoquímico

Durante la cosecha y transformación de materias primas agrícolas se producen residuos, materiales sobrantes como cáscaras, en cuya estructura se pueden encontrar pectinas, ácidos grasos, esencias, colorantes (carotenoides, clorofilas, antocianinas, betalaínas), antioxidantes (licopeno y compuestos fenólicos), almidón, entre otros,

los cuales pueden ser extraídos para sintetizar otros compuestos o servir como ingredientes en la industria agroalimentaria. Por otra parte, durante la transformación de estas materias primas en productos terminados, se generarán subproductos o materiales secundarios útiles, como es en el caso de las frutas y vegetales que por defectos de calidad (daños leves), tamaño, forma o algún otro atributo no cumplen con las especificaciones exigidas por el consumidor, convirtiéndose en material de uso potencial en otras aplicaciones. Las frutas y vegetales dentro de sus constituyentes contienen los denominados metabolitos primarios, compuestos químicos producidos por casi todos los organismos. Estos intervienen en los procesos de supervivencia, crecimiento y reproducción, necesarios para el metabolismo a nivel celular, aminoácidos y azúcares (Sagwan *et al.*, 2010). Por otra parte, los metabolitos secundarios son compuestos químicos sintetizados por células vegetales que cumplen funciones no esenciales para el crecimiento o reproducción, los cuales pueden ser clasificados en varias familias: terpenoides, compuestos fenólicos y sus derivados (compuestos nitrogenados o alcaloides).

## **1.5. Compuestos fenólicos**

Los compuestos fenólicos (CF) son metabolitos secundarios que se caracterizan por estar formados por unidades de fenoles-anillos aromáticos unidos a uno o más grupos hidroxilos (OH) . Estas biomoléculas se localizan en todas las partes de las plantas y su concentración varía a todo lo largo del ciclo vegetativo; además, participan en diversas funciones, tales como la asimilación de nutrientes, síntesis proteica, actividad enzimática, fotosíntesis, formación de compuestos y en la defensa ante factores bióticos y abióticos. Los compuestos fenólicos se han asociado con varias propiedades biológicas como antiparasitario, antimicrobiano, antitumoral, antihiperlipidémico, antidiabético, analgésico, antiinflamatorio, actividad hepatoprotectora, antialérgica y antipirética (Kabir *et al.*, 2017).

### **1.5.1. Clasificación de los compuestos fenólicos**

La clasificación de los compuestos es esencial para comprender su estructura, propiedades y funciones biológicas. Actualmente, se conocen más de 8000 compuestos fenólicos, que han sido clasificados como flavonoides (que incluyen flavanoles, fla-

vanonas, flavonoles, flavonas, isoflavonoides y antocianinas) y no flavonoides (entre los que están los ácidos hidroxibenzoicos y ácidos hidroxicinámicos).

#### **1.5.1.1. Flavonoides**

##### **Antocianinas**

Son pigmentos solubles en agua. Están compuestos por una alicona y una azúcar, unidos principalmente en la posición 3 en el anillo C o con menor frecuencia en la posición 5 o 7 del anillo A. Se encuentran ampliamente en alimentos de origen vegetal y son responsables de la coloración de los frutos y las flores. Las antocianinas más conocidas son la cianidina, la petunidina, la pelargonidina y la malvidina.

##### **Flavonoles**

Poseen un grupo hidroxilo en la posición 3 y un grupo carbonilo en la posición 4 del anillo C. Están unidos a azúcares por la posición C3 y, con menos frecuencia, al anillo A en la posición 7. Suelen encontrarse como O-glucósidos y C-glucósidos en alimentos de origen vegetal. Los flavonoles que no están unidos a un azúcar se denominan agliconas y no se encuentran presentes en alimentos frescos. El kaempferol y la quercetina son los compuestos glucosídicos más comunes en los alimentos.

#### **1.5.1.2. No Flavonoides**

##### **Ácido fenólico**

Son compuestos que se encuentran ampliamente en alimentos de origen vegetal. Se dividen en dos grupos: ácidos hidroxibenzoicos y ácidos hidroxicinámicos. Estos compuestos presentan más de un grupo hidroxilo y una mayor separación del grupo carbonilo con respecto al anillo aromático, lo que incrementa su capacidad antioxidante. Los principales ácidos fenólicos son los derivados del ácido cafeico, ferúlico, p-cumarico y sináptico.

## 1.6. Actividad Antioxidante

Los antioxidantes son compuestos que tienen la función de inhibir o disminuir la oxidación de una macromolécula, estos pueden tener naturaleza orgánica o inorgánica. La macromolécula se oxida debido a la presencia de radicales libres que son definidos como un átomo o grupos de átomos los cuales presentan uno o más electrones no apareados en forma libre. Los radicales libres se generan a través de procesos como la escisión homolítica, heterolítica o reacciones redox, y los principales oxidantes son el oxígeno singlete, el ozono y el peróxido de hidrógeno, entre otros. Estas sustancias se conocen como especies reactivas de oxígeno. Los radicales resultantes pueden incluir radicales lipídicos, superóxido, hidroxilo, hidroperóxido y óxido nítrico. Las reacciones en cadena comienzan con la formación de radicales en un proceso llamado iniciación. Luego, el radical se propaga al atacar otras moléculas, y finalmente se producen reacciones de terminación que generan especies neutras. Los antioxidantes tienen la capacidad de reducir la formación excesiva de radicales libres, lo que provoca un desequilibrio en la ruta metabólica, reduciendo así el estrés oxidativo (Dorantes-Salazar *et al.*, 2023; Martemucci *et al.*, 2022; Zeb & Zeb, 2021) Los métodos más usados para la observación de la capacidad antioxidante son: el poder antioxidante reductor férrico (FRAP), el poder antioxidante con DPPH y el poder antioxidante con ABTS.

### ABTS

El ensayo se da a partir de la interacción entre un antioxidante y el catión radical ABTS<sup>+</sup>. La eliminación del radical ABTS<sup>+</sup> se puede determinar cuantitativamente a partir del blanqueo de su máximo característico en el espectro de absorción a diferentes longitudes de onda (414, 417, 645, 734 y 815 nm), sin embargo el rango recomendado para evitar posibles interferencias en las muestras de estudio es el rango entre 730 y 734 nm. También es necesario considerar que la banda de absorbancia del ABTS<sup>+</sup> se ve desplazada de acuerdo al solvente utilizado debido al efecto solvatocrómico: metanol (744-745 nm), etanol (753 nm) y propanol-1 (757 nm) (Ilyasov *et al.*, 2020).

## 1.7. Mango

El Mango (*Mangifera indica* L.) pertenece a la familia Anacardiaceae, comprende alrededor de 50 especies nativas del sureste de Asia. Es una de las frutas tropicales más importantes del mundo por su producción, superficie cultivada y popularidad. Su producción global es superior a 27 millones de toneladas, lo que lo ubica como el mayor cultivo tropical. La India es el mayor productor, seguida de China, Tailandia, Indonesia, Pakistán, México, Brasil, Bangladesh y Nigeria. El mango es uno de los cuatro cultivos de frutas que ha registrado las tasas de crecimiento anual promedio más rápidas en términos de volumen de exportación, entre los productos alimenticios comercializados internacionalmente, superando significativamente el crecimiento en los principales mercados de alimentos (FAO, 2020). A nivel de producción, México es el sexto lugar a nivel mundial, con 2.18 millones de toneladas, con el que aporta el 3.9 % de la producción mundial. Actualmente se satisface el 100 % de los requerimientos nacionales, asimismo, las importaciones mundiales han aumentado 34.75 % en la última década, lo que ha generado un incremento en las exportaciones mexicanas principalmente con destino a Estados Unidos y Canadá (Hernández-Nolasco, 2023)(SAGARPA, 2014).

Es un fruto que presenta tonalidades que son de color verdoso, rojizo o amarillento, muestra un sabor dulce cuando presenta su grado de madurez (Figura 1.2). Las variedades más importantes en México son Ataulfo, Manila, Tommy Atkins, Haden, Irwin, Keitt, Kent y Criollo que tienen características de sabor únicas y un alto valor nutritivo (CONASPROMANGO, 2012).

. La cáscara de mango es uno de los principales subproductos durante el procesamiento del mango y genera entre el 35 y el 60 % de los desechos de la fruta. Constituye entre el 15 y el 20 % del peso de la fruta. Se ha encontrado que las cáscaras de mango son una fuente significativa de proteínas, grasas, carbohidratos y algunos compuestos bioactivos específicos (Choudhary *et al.*, 2023)

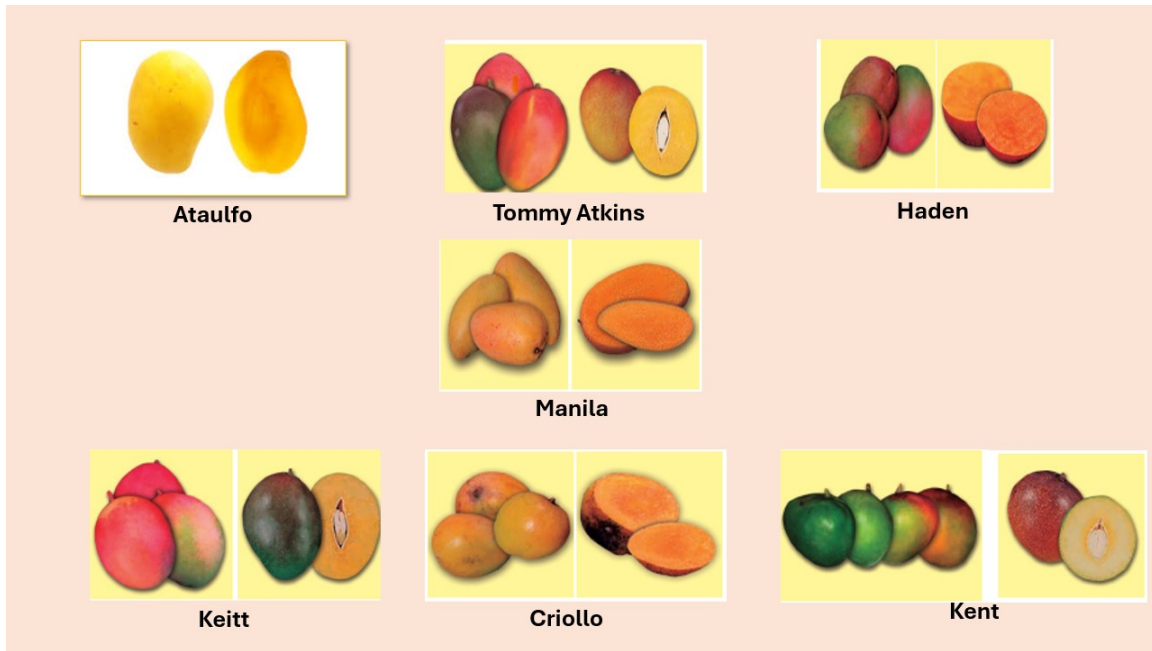


Figura 1.2. Representación de cultivares de mango con diferente grado de maduración

### 1.7.1. Composición química y nutricional del mango

El Mango (*Mangifera indica L.*) es una gran fuente de macronutrientes como son carbohidratos, lípidos y ácidos grasos, aminoácidos y proteínas, y ácidos orgánicos. También contiene gran cantidad de micronutrientes como lo son las vitaminas y minerales, así como metabolitos secundarios como compuestos fenólicos, flavonoides, carotenoides y compuestos volátiles. Por cada 100 g de pulpa cuenta con un valor energético aproximado de 60 a 190 kcal, además su contenido nutricional y no nutricional, así como su contenido de agua varía dependiendo del tipo de mango y de características propias de la cosecha del fruto.

Los compuestos bioactivos son moléculas que se encuentra en pequeñas cantidades en vegetales, frutas, granos y nueces. Son moléculas que poseen propiedades antioxidantes, antimicrobianas, anticancerígenas y antiinflamatorias. En el mango están principalmente en la corteza, hojas, semilla y cáscara, Tabla 1.4.(García-Mahecha *et al.*, 2023; Quintana *et al.*, 2021; Ribeiro & Schieber, 2010)

La corteza presenta terpenoides y compuestos fenólicos como ácido gálico, ácido benzoico, galato de metilo, catequina, mangiferina, etc. Las flores presenta ácido

gálico, ácido elágico y compuestos volátiles. Mientras tanto las hojas presenta polifenoles, terpenoides, carbohidratos, esteroides, carotenoides, vitaminas, ácidos grasos y aminoácidos. Además la semilla tienen niveles altos de flavonoides y ácidos fenólicos.

Por otro lado, se ha encontrado que las cáscaras de mango son ricas en compuestos fenólicos valiosos como la mangiferina, derivados de benzofenona, xantonas, ácidos fenólicos, ácidos grasos, flavonoides, procianidinas, penta-O-galoil-glucósido, galato de metilo, tetra-O-galoil-glucósido, maclurin di-O-galoil-glucósido e isoquercitrina, polifenoles, carotenoides, enzimas, vitaminas C y E y otros compuestos bioactivos que podrían ser de interés en la industria de los alimentos, química, farmacéutica, etc. (Quintana *et al.*, 2021).

Tabla 1.4. Compuestos Bioactivos en Mango

Compuesto Bioactivo	Parte de la planta o fruto
Ácido ascórbico y deshidroascórbico	Pulpa
$\beta$ -caroteno	Pulpa
Otros carotenoides: $\zeta$ caroteno, mutatochromo, $\alpha$ -criptoxantina, violaxantina, luteoxantina, mutatoxantina, auroxantina	Pulpa
Polifenoles: Mangiferina, isomangiferina, homomangiferina, quercetina, kaempferol, antocianinas	Pulpa, corteza, semilla, piel, hojas, ramas
Ácidos fenólicos: Gálico, protocatequico, ferulico, cafeico, cumarico, elágico, ácido 4-cafeoilquínicos	Pulpa, piel, semilla, núcleo
Otros fenoles: alqu(en)ilresorcinol	Piel, savia
Fibra	Piel, semilla, pulpa
Terpenoides: $\alpha$ -pineno, $\beta$ -pineno, $\beta$ -mirceno, limoneno, cis-ocimeno, trans-ocimeno, terpineno, $\alpha$ -guaieno, canfeno, fencheno, $\alpha$ -humuleno, y otros (lactonas, aldehídos, ácidos, sesquiterpenos, ésteres y alcoholes alifáticos)	Pulpa, piel, savia
Minerales antioxidantes: Potasio, cobre, zinc, manganeso, hierro, selenio	Pulpa, piel, semilla, corteza de tallo

Fuente: (Ribeiro &amp; Schieber, 2010)

## 1.8. Lixiviación de compuestos fenólicos

Los métodos de extracción convencionales que se han utilizado para la obtención de compuestos fenólicos incluyen la extracción por solvente, agitación, Soxhlet, destilación, mezcla manual y percolación de gas. La extracción sólido-líquido como Operación Unitaria consiste en disolver un componente o grupo de componentes que forman parte de un sólido con un solvente adecuado en el que es insoluble el resto del sólido que es conocido como inerte. (Welky et al, 1991). La extracción con-

vencional por solvente es el método más común para la realización de la extracción sólido –líquido, la extracción de estos compuestos se ve afectada por la naturaleza química del disolvente (polaridad). Por tanto, el tipo de disolvente juega un papel clave en la extracción de compuestos fenólicos (Rezaie *et al.*, 2015). Para dicha operación es necesario: El contacto del disolvente con el sólido a tratar, para disolver el componente soluble o soluto. La separación de la solución del resto del sólido que contiene el resto del soluto y un poco de la solución que se halla en la superficie de las partículas.

### **Extracción Convencional por solvente**

Para dicha operación es necesario, el contacto del disolvente con el sólido a tratar, para disolver el componente soluble o soluto. La separación de la solución del resto del sólido que contiene el resto del soluto y un poco de la solución que se halla en la superficie de las partículas. No obstante, se ha reportado que el uso de estas metodologías convencionales requiere de grandes cantidades de disolventes, largos tiempos de extracción, baja selectividad y el uso de altas temperaturas, lo cual puede reducir la actividad de compuestos termosensibles (Alara *et al.*, 2021).

### **Extracción asistida por microondas**

Este método es asistido por microondas el cual es un campo electromagnético que se encuentran situado en un rango de frecuencia de 0.3 - 300 GHz o entre una longitud de onda de 1 cm a 1 m del espectro electromagnético. La interacción de las microondas con respecto a la matriz y el solvente se da por dos mecanismos; conducción iónica y rotación dipolar, la interacción se da muchas veces de manera simultanea y sobre compuestos polares, en caso contrario los compuestos polares no se ven muy afectados. Tiene su fundamento en la aplicación de la energía electrostática directamente sobre la matriz para transformarla en calor, esta energía actúa sobre los componentes polares presentes en el solvente, ocasionando un aumento en la temperatura y la presión, facilitando la entrada del solvente y la extracción de los compuestos celulares (Barotto, 2021; Montiel *et al.*, 2023).

## **Extracción de líquidos presurizados**

También conocida como extracción con agua subcrítica, utiliza una pequeña cantidad de solventes orgánicos a una alta temperatura y presión con tiempo de extracción corto. Principalmente se utiliza agua como solvente de extracción, la cual se encuentra en su estado subcrítico (100 - 374 °C; 1 - 221 bar), disminuyendo así su tensión superficial, incrementando su solubilidad, su tasa de difusión y la transferencia de masa. La extracción dependerá de la polaridad del compuesto a extraer, las condiciones de selectividad y capacidad de extracción del solvente, se modificarán mediante la regulación de la temperatura (Barotto, 2021).

## **Extracción de fluidos supercríticos**

Este método utiliza sustancias inertes las cuales se encuentra a condiciones de temperatura y de presión superiores a su punto crítico, esto indica una convergencia entre las fases líquida y gaseosa (una sola fase), y sus propiedades físicas sean intermedias entre ambas fases; tienen densidad alta (similar a líquidos), viscosidad y tensión superficial baja (similar a un gas) y difusividad intermedia (Barotto, 2021).

El solvente más utilizado en este método es el CO<sub>2</sub> debido a las ventajas que presenta; es económico, inerte, amigable con el ambiente, seguro (no tóxico, no inflamable y no explosivo), además en estado supercrítico (presenta una alta difusividad y densidad), teniendo una alta capacidad de transporte y extracción (Barotto, 2021; Montiel *et al.*, 2023).

## **Métodos de extracción no convencionales o emergentes**

Como alternativa a las extracciones convencionales actualmente se utilizan distintas tecnologías como la extracción asistida por microondas, la extracción de líquidos presurizados, la extracción de fluidos supercríticos y la extracción asistida por ultrasonido (EAU), para mejorar los rendimientos extracción de los compuestos de interés.

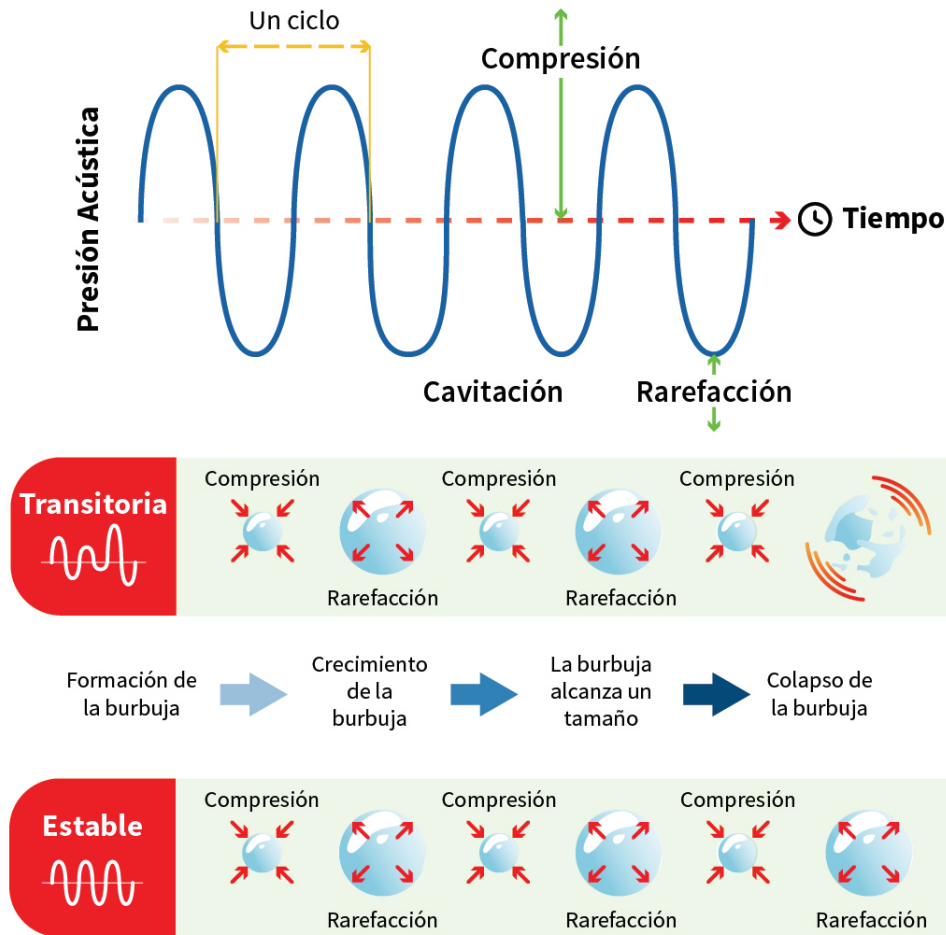
## 1.9. Generalidades del Ultrasonido

El ultrasonido se define como ondas sonoras que presentan un rango de frecuencia superior al perceptible por el oído humano (>20 kHz). El objetivo del ultrasonido es convertir la energía eléctrica en vibraciones (energía mecánica), con el propósito de penetrar diversos materiales. A través de la transferencia de energía, se generan efectos térmicos, químicos, mecánicos y de cavitación. En el mecanismo térmico, el medio absorbe la energía vibracional tras su propagación, la cual se transforma en energía térmica, aumentando la temperatura del medio. Por otro lado el efecto mecánico, se da por medio de la vibración de las partículas debido a las ondas mecánicas, lo que intensifica el movimiento de partículas en el líquido y acelera la transferencia de masa. Durante la propagación de la onda, las moléculas del líquido experimentan un efecto de compresión y descompresión, lo que ocasiona una presión sonora adicional que supera la presión hidrostática del medio.

De acuerdo a su rango de frecuencia, se determinará la aplicación del ultrasonido y se pueden dividir en ultrasonidos de baja energía y alta energía. Un ultrasonido de baja energía (baja potencia y baja intensidad) tiene frecuencias superiores a 100 kHz a una intensidad menor a  $1\text{Wcm}^2$ . Los ultrasonidos de alta energía (alta potencia y alta intensidad) tienen frecuencias entre 20 y 500 kHz, induciendo efectos en las propiedades físicas, mecánicas o químicas/bioquímicas de los compuestos.

### Extracción asistida por ultrasonido

La extracción se ve impulsada por el fenómeno de cavitación (Figura 1.3), el cual consiste en la formación, crecimiento, oscilación y posterior colapso vigoroso de burbujas de vapor y/o gas en el solvente. El colapso de la burbuja genera agitación intensa en el solvente a una pequeña escala, facilitando la penetración del disolvente. Esto provoca una mejor interacción entre el contenido intracelular y el solvente de extracción, provocando una óptima capacidad en los procesos de transferencia de masa (Tiwari, 2015).



Dinámica de una burbuja sometida a una onda acústica en un medio líquido: nucleación, expansión e implosión.

Transitoria. Las burbujas colapsan rápidamente, generando una onda de choque.

Estable. Las burbujas no sufren colapso, en cambio oscilan en respuesta a los cambios de presión

Figura 1.3. Cavitación acústica

## 1.10. Actividad bioherbicida de los compuestos fenólicos

El uso de sustancias naturales con perfil ambiental y toxicológico más seguro es una necesidad creciente, pues las personas consideran que los herbicidas naturales son más seguros que los herbicidas convencionales, aunque esto aún no se ha va-

lidad. Es una de las razones para examinar, investigar y luego usar estos productos en la agricultura convencional y orgánica (Dayan & Duke, 2014). Actualmente existen algunos estudios que han reportado la actividad bioherbicida de extractos obtenidos de subproductos naturales tales como nanoemulsiones elaboradas a partir de *Schinus terebinthifolia* propuestas por Fernandes *et al.* (2023), las cuales pueden utilizarse como ingrediente activo para la realización de bioherbicidas a partir de formulaciones amigables con el medio ambiente. La actividad bioherbicida se determinó por la inhibición en la germinación a partir de la disminución de la cantidad de compuestos fotosintéticos (clorofila y carotenoides), metabolitos secundarios (flavonoides, compuestos fenólicos y taninos), así como su actividad enzimática (superóxido dismutasa, catalasa y peroxidasa). La aplicación de extractos naturales pretende reducir la utilización de compuestos sintéticos en la industria agrícola, esto a partir de la utilización de sustancias fitotóxicas y compuestos aleloquímicos, como el propuesto por Krumsri *et al.* (2022) quienes aislaron tres compuestos fitotóxicos como son; el ácido cafeico, el cafeato de metilo y la (S)-6 hidroximelleína presentes en hojas de *S. Garrettiana*, inhibiendo la germinación de *L. Sativum*, *M. sativa*, *L. sativa*, *P. pratense* y *L. multiflorum*. Para el caso del mango, Tabla 1.5, se ha buscado la utilización de cada una de las partes de la planta (pulpa, semilla, piel y hojas) como lo descrito por Elmetwally *et al.* (2022), que, a partir de residuos provenientes de cáscara de naranja y hojas de mango por extracción acuosa, determinó el efecto alelopático en la germinación de malezas, debido al alto contenido de compuestos fenólicos presentes en el producto extraído, considerando a éste como un potencial bioherbicida.

Tabla 1.5. Composición fenólica y actividad biológica del mango (*Mangifera indica*) a partir de diferentes métodos de extracción

Metodología de Extracción	Parte Usada	Composición fenólica	Actividad biológica
Extracción sólido-líquido	Cáscara	Ácidos gálico y hidrocibenzoico, ácido hidroxicinámico y vainílico	Antioxidante
	Cáscara , pulpa	Ácido gálico, hexósido de ácido hidroxibenzoico, iso mono-galoil-glucosa	Antioxidante
Extracción asistida por microondas	Cáscara	Mangiferina	Antioxidante
	Cáscara	Ácido gálico, mangiferina y quercetina	Antioxidante, antiproliferativo
Extracción asistida por Ultrasonido	Cáscara	Galoil glucosa, ácido gálico, 3-O _galato, mangiferina, tetragaloil glucosa, apigenina 7-O-diglucurónido	Antioxidante
	Cáscara	Ácido gálico, ácido clorogénico, ácido ferúlico, ácido cumárico, catequinas, epicatequinas, mangiferina,	Antioxidante
Extracción con fluidos supercríticos	Cáscara	Mangiferina, ácido gálico, ácido elágico, quercetina	Antioxidante
	Cáscara	Catequina, prociniadina, cinámico, trans-resveratrol, quercetina, rutina	Antioxidante

Fuente. Adaptado de Quintana *et al.* (2021)

### 1.10.1. Acoplamiento molecular (Docking)

Muchos de los procesos metabólicos y biológicos son catalizados por enzimas, que son compuestos químicos orgánicos pertenecientes al grupo específico de biomoléculas llamadas proteínas. Estos compuestos tienen una estructura cuaternaria, y sus organizaciones internas permiten definir un sitio conocido como centro activo. Si función química, cinética y termodinámica esta relacionada con la reducción de la energía de activación durante la reacción global (Ramírez *et al.*, 2022).

El acoplamiento molecular “Docking” es una técnica de bioinformática que facilita la predicción y el cálculo computacional de la posición óptima de interacción entre un ligando con peso molecular relativamente bajo (medicamentos, compuestos fenólicos, sustancias contaminantes, etc.) y una diana (proteínas, ácidos nucleicos, etc.), a partir de sus representaciones tridimensionales. Cuanto más estable, específica y favorable sea la interacción entre el ligando y la diana, mayor será su actividad biológica. El acoplamiento molecular generalmente utiliza dos algoritmos distintos. El primero es un algoritmo de muestreo que predice todas las posibles configuraciones o conformaciones estructurales (poses) que el ligando puede adoptar en un dominio o sitio activo del objetivo proteico. El segundo algoritmo incluye una función de puntuación que estima las energías de unión entre el ligando y el receptor para cada una de las configuraciones generadas por el primer algoritmo. A partir de los resultados de ambos algoritmos, se clasifican (o jerarquizan) todas las configuraciones de unión del ligando y su receptor según sus energías de unión (Prieto-Martínez *et al.*, 2018).

Receptor: Es generalmente una proteína que contiene el sitio de unión

Ligando: Es una estructura (generalmente una pequeña molécula) que interactúa con el sitio de unión.

Sitio de unión: Conjunto de aminoácidos que actúa con el ligando ya sea mediante interacciones iónicas, hidrofóbicas, etc.

Esta técnica es posible realizarse entre 2 macromoléculas (proteínas), el número posible de conformaciones en el acoplamiento puede ser muy elevado dependiendo de la flexibilidad de las moléculas. de la misma manera, es más complicado encontrar la posición y orientación que tendrá el ligando dentro del receptor, si la cavidad del sitio es grande y/o flexible, por lo tanto el uso de equipos computacionales ayuda a acelerar el proceso de búsqueda, así como sugerir modelos de unión.

El acoplamiento molecular se realiza a partir de 2 etapas: a) docking o proceso de búsqueda de la conformación y orientación de las moléculas y b) scoring, que consiste en asignar un valor o puntaje que mida la interacción entre las 2 estructuras. En la actualidad el acoplamiento molecular es muy útil para proponer modelos de unión, pero no son tan confiables para calcular con precisión la energía de interacción, esto es debido a la gran cantidad de aproximaciones que se hacen para calcular la energía de interacción de forma rápida. La dinámica molecular permite reevaluar las interacciones predichas durante el docking para el complejo ligando-receptor en un medio más parecido al de la célula

# II.OBJETIVOS E HIPÓTESIS

## 2.1. Objetivo general

Optimizar la obtención de extractos de compuestos fenólicos de cáscaras de mango manila (*Mangifera indica L.*) mediante la lixiviación asistida con ultrasonido de alta intensidad, y determinar su aplicación como posible bioherbicida.

## 2.2. Objetivos específicos

1. Optimizar el proceso de extracción de compuestos fenólicos totales (CFT) de las cáscaras de mango manila (*Mangifera indica L.*) con y sin aplicación de ultrasonido de alta intensidad.
2. Identificar y cuantificar los compuestos fenólicos presentes en los extractos y relacionarlos con el poder bioherbicida y su actividad antioxidante.
3. Aplicar el extracto de cáscara de mango como inhibidor del proceso de germinación de semillas de malezas.
4. Identificar el posible mecanismo de acción de los compuestos fenólicos presentes en las cáscaras de mango para la inhibición de la enzima acetohidroxiácido sintasa (AHAS).

## 2.3. Hipótesis

Los compuestos fenólicos presentes en las cáscaras de mango manila obtenidos mediante la lixiviación asistida y no asistida por ultrasonido inhiben la germinación de semillas de malezas.

# III.METODOLOGÍA

## 3.1. Plan de trabajo

Con el propósito de evitar el uso de herbicidas obtenidos a partir de fuentes sintéticas y químicas, para la eliminación de malezas en la producción de productos agrícolas, es necesario buscar alternativas a partir de fuentes naturales para su aprovechamiento como potenciales bioherbicidas. Para ello se busca evaluar el efecto de la actividad bioherbicida de extractos obtenidos de cascara de mango, a partir de la optimización de lixiviación convencional por solvente y asistida por ultrasonido de alta intensidad. Por tanto, en función de los objetivos planteados, se determinó un plan de trabajo (Figura 3.1), el cual consta de una etapa preliminar y tres etapas de operación.

En la etapa preliminar se realizó la preparación y estandarización de la materia prima, minimizando los cambios en las características físicas, químicas y fisiológicas de la cáscara de mango. En la primera etapa se llevó a cabo la optimización del proceso de extracción con y sin aplicación de ultrasonido de alta intensidad a través de un diseño factorial  $3^2$  utilizando como medio de extracción agua y etanol. En esta etapa se evaluó el rendimiento de extracción de los compuestos fenólicos y su actividad antioxidante. La segunda etapa consistió en la identificación de los compuestos fenólicos en cáscara de mango por medio de la técnica de Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) a partir de los extractos óptimos, utilizando los estándares de ácido gálico y quercetina. En la última etapa se evaluó el poder bioherbicida de los extractos de mango sobre la germinación y/o crecimiento de semillas de pasto, por lo tanto, para la identificación del posible mecanismo de acción de los compuestos fenólicos (ácido gálico y quercetina) presentes en el extracto sobre la inhibición de la enzima acetohidroxiácido sintasa (AHAS) fue necesario realizar el acoplamiento molecular (Docking) de cada una de las estructuras por medio del software "AutoDock Vina". Asimismo, se realizaron pruebas *in vitro* de las semillas de pasto; para ello, se utilizó como medio de control la mezcla del agar bacteriológico con el agar Murashige Skoog.. Los resultados obtenidos en la prueba se determinaron a partir del porcentaje de germinación.

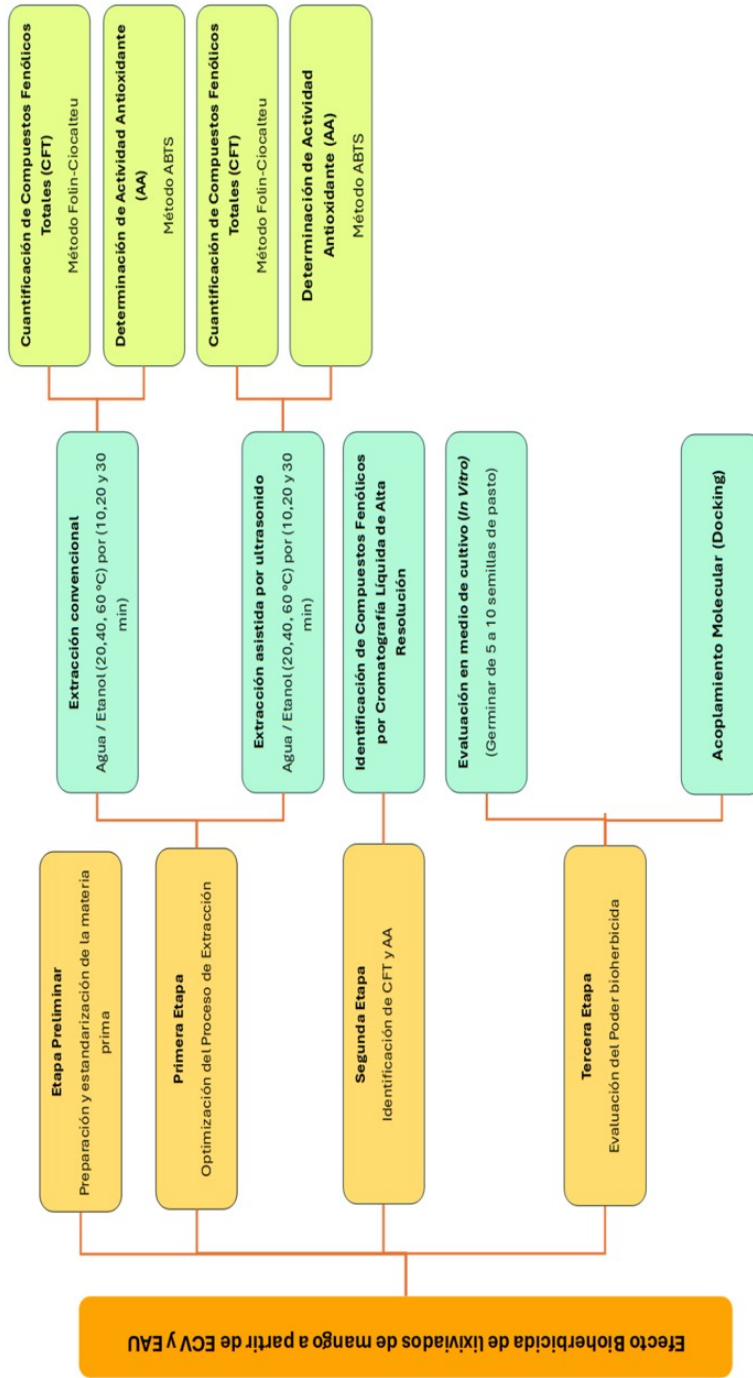


Figura 3.1. Plan de Trabajo

## 3.2. Reactivos

Para el desarrollo del trabajo experimental se utilizaron los siguiente reactivos: Agua desionizada (Marca Reyma), etanol (Reyma), ( $\pm$ )6 hidroxil 2, 5, 7, 8 tetrametil-cromano - 2 carboxilico "TROLOX" (Sigma), carbonato de sodio (Meyer), Folin Cio-calteu 2M (Sigma Aldrich), ácido 2, 2 azino - bis (3 etilbenzotiazolina - 6 - sulfónico) "ABTS" (Sigma Aldrich), persulfato de potasio (Meyer), agua grado HPLC (Merck), ácido fosfórico grado HPLC (JT Baker), ácido acético grado HPLC (JT Baker), metanol grado HPLC (Merck), acetonitrilo grado HPLC (JT Baker), agar bacteriológico (MCDLab), agar Murashige Skoog (PhytoTechLabs), 6 - Bencilaminopurina "BAP" (PhytoTechLabs), hipoclorito de sodio (Cloralex), semillas de pasto (Hortiflor).

## 3.3. Preparación de la materia prima

Se realizó la compra del mango (*Mangífera indica* L.) en un mercado local (Puebla México) y se seleccionó los frutos con piel de color amarillo uniforme, sin presencia de manchas ni protuberancias. La fruta seleccionada, se lavó y posteriormente se le retiró la cáscara. Las cáscaras fueron deshidratadas a peso constante ( $60 \pm 1^\circ\text{C}$ ), una vez seca la muestra fue molida y tamizada a un tamaño de partícula de 500  $\mu\text{m}$ .

Para lograr una estandarización en las condiciones óptimas de la cáscara de mango, minimizando así el efecto en los cambios físicos, químicos y fisiológicos de la materia prima, se realizaron diferentes análisis, entre los que destacan; la acidez titulable (% de ácido cítrico), sólidos solubles totales (SST) e índice de madurez (IM). Los siguientes análisis se describen de la siguiente manera:

### 3.3.1. Determinación de acidez

El procedimiento se realizó de acuerdo al método oficial AOAC 942.15 (Lee *et al.*, 2005), para lo cual se utilizó 1 g de muestra diluida en 10 ml de agua destilada, a la cual se añadieron 4 gotas de fenolftaleína. La mezcla se tituló con hidróxido de

sodio 0.1 N hasta el viraje de la fenolftaleína. El porcentaje de acidez se determinó de acuerdo a la Ecuación 3.1.

$$\% \text{Acidez} = \frac{(V_{\text{NaOH}}) (V_{\text{NaOH}}) (MAC)}{V} \quad (3.1)$$

### 3.3.2. Sólidos totales disueltos

Se determino de acuerdo a la NMX-F-103-NORMEX-2009. Se utilizo un refractómetro digital (PAL-1 Atago,China).

### 3.3.3. Índice de madurez

El índice de madurez de la cáscara de mango se determino mediante la ecuación3.2

$$IM = \frac{SST}{ACIDEZ} \quad (3.2)$$

## 3.4. Procesos de extracción

### 3.4.1. Método de extracción convencional por agitación (ECV)

Para la ECV se colocaron 2 g de muestra de cáscara de mango seca en un matraz erlenmeyer, posteriormente se le añadió 40 ml de disolvente (agua o etanol). La muestra se mantuvo a una temperatura constante (20, 40 y 60°C), bajo agitación a 1000 rpm durante 10, 20 y 30 minutos. El vaso de precipitado se mantuvo protegido contra la luz con el fin de evitar la degradación de los compuestos fenólicos. El extracto obtenido se centrifugo a 3500 rpm durante 30 minutos. Todas las muestras se realizaron por triplicado. Las muestras fueron almacenadas a 4°C en oscuridad hasta su análisis.

### 3.4.2. Método de extracción asistido con ultrasonido de alta intensidad (EAU)

Para la EAU se colocaron 2 g de muestra seca en un matraz erlenmeyer, posteriormente se añadió 40 ml de disolvente (agua o etanol). Se utilizo un sistema de

baño ultrasónico (Cole-Parmer 8893, 40 kHz, 300 W) y los experimentos se realizaron a la máxima potencia (100 %, 300 W, 40 kHz). El extracto obtenido se centrifugó a 3500 rpm durante 30 minutos. Todas las muestras se realizaron por triplicado. Las muestras fueron almacenadas a 4°C en oscuridad hasta su análisis.

### **3.5. Cuantificación del contenido de compuestos fenólicos totales (CFT) y su actividad antioxidante (AA)**

#### **3.5.1. CFT**

La cuantificación se realizó por el método colorimétrico Folin–Ciocalteu descrito por Sekhon-Loodu *et al.* (2013); Soong & Barlow (2004). En un tubo de ensayo se mezclaron en el siguiente orden 100 µL de extracto, 2 mL de agua desionizada y 200 µL de reactivo Folin–Ciocalteu 2M. Luego éstos se dejaron en agitación a temperatura ambiente durante 3 min. Enseguida se añadió a la mezcla 1 mL de carbonato de sodio al 20 %; se agitó la mezcla y se dejó reposar durante una hora en la oscuridad. La absorbancia se midió en un espectrofotómetro a 765 nm. La cuantificación se realizó utilizando una curva de concentración de ácido gálico y los resultados finales se expresaron como mg GAE/100 g de muestra seca. Los extractos fueron evaluados por triplicado.

#### **3.5.2. Método ABTS**

La actividad antioxidante se cuantificó mediante la técnica descrita por Villa-Rodríguez *et al.* (2011) y Butkhup *et al.* (2013). Para ello, en primer lugar, se diluyó el ABTS en agua a una concentración de 7 mM. Posteriormente, se formó el radical ABTS\* preparando una disolución 2.45 mM de persulfato potásico (el persulfato potásico se diluyó en el ABTS 7 mM) dejándose en incubación durante 18 horas a temperatura ambiente y en la oscuridad. Una vez que se forma el radical ABTS, éste se diluyó en etanol hasta obtener un valor de absorbancia de  $0.700 \pm 0.100$  a 734 nm (aproximadamente 350 µL en 25 ml de etanol). En seguida se realizaron las lecturas de las muestras, para lo cual se tomaron 100 µL de extracto y se le agregaron 900 µL

de ABTS midiéndose la absorbancia a 734 nm. La cuantificación se realizó utilizando una curva de concentración de TROLOX. Los resultados fueron expresados en mg TROLOX/100 g de muestra seca.

### 3.6. Diseño experimental

Par optimizar el proceso de extracción asistido con ultrasonido de alta intensidad (0 y 100 % de potencia ultrasónica), se evaluó la interacción entre las variables tiempo ( $x_1$ ) y temperatura ( $x_2$ ) sobre las variables respuesta, Compuestos Fenólicos Totales (CFT) y Actividad Antioxidante (AA) ( $y$ ), como se indica en la Tabla 3.1.

Se utilizó un diseño experimental factorial  $3^2$  (dos factores y tres niveles) y se ajustó con un modelo de regresión cuadrático (Ecuación 3.3). Este diseño se aplicó para cada uno de los disolventes empleados (etanol y agua).

$$y = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \beta_{12} x_1 x_2 + \beta_{11} x_1^2 + \beta_{22} x_2^2 \quad (3.3)$$

Tabla 3.1. Factores y niveles del diseño experimental

Variables independientes	Niveles codificados		
	-1	0	1
Tiempo (min) ( $x_1$ )	10	20	30
Temperatura (°C) ( $x_2$ )	20	40	60

Se utilizó un análisis de la varianza (ANOVA) y el valor  $p$  para determinar los coeficientes de regresión ( $\beta$ ).

### 3.7. Identificación de compuestos por Cromatografía Capilar de Líquidos de Alta Resolución (HPLC)

El análisis por HPLC se realizó con base en la metodología descrita por Rojas-Garbanzo *et al.* (2019). Se utilizó una columna C18 (250 mm  $\times$  4.6 mm, 5  $\mu$ m). La fase móvil consistió para el caso de la quercetina en metanol (A) y 0.3 % de ácido

fosfórico en agua (B) en relación isocrática 95 % A; 5 % B, fijando la longitud de onda a 370 nm. Para el caso del ácido gálico se utilizó acetonitrilo (A) y 0.1 % de ácido acético en agua (B) en relación isocrática 90 % A; 10 % B, fijando la longitud de onda a 280 nm. Para ambos casos, se programo un flujo de elución de 1 mL/min.

## **3.8. Evaluación del poder bioherbicida**

### **3.8.1. Preparación del Medio Control para Cultivo *In Vitro***

Para la preparación de 100 mL del medio se pesaron en el siguiente orden 0.3 gramos de sacarosa y se mezclaron en 97.14 mL de agua, después se añadieron 2 g de agar bacteriológico, posteriormente se añadió 0.44 g de agar Murashige Skoog (Phytotechnology M404) y se mezclaron uniformemente. Finalmente se agregaron 100 µl de 6 - Benzilaminopurina (BAP) como regulador de crecimiento. Se ajustó el pH entre 5 y 6 con la adición de ácido cítrico al 30 % (Máximo 3 gotas). El medio se vertió en frascos y se esterilizaron durante 15 a 20 minutos. Para medir el efecto inhibitorio de los extractos obtenidos, fue necesario añadir 10 mL de extracto a las distintas concentraciones optimizadas durante el proceso de extracción asistido y no asistido por ultrasonido.

### **3.8.2. Lavado y Cultivo de Semillas**

Dentro de una campana de Flujo Laminar, se colocaron de 10 a 30 semillas de pasto (Hortaflo) sobre una manta de cielo con el fin de envolverlas, para posteriormente sumergirlas en agua destilada durante 10 minutos, luego se realizó un enjuague con alcohol etílico al 1 % durante 1 minuto, al terminar se realizó un enjuague con agua estéril durante 3 minutos, después se realizó un enjuague con una solución de hipoclorito de sodio al 20 % durante 10 minutos realizando agitación cada 2 minutos, posteriormente se realizaron tres enjuagues con agua estéril durante 5, 10 y 15 minutos respectivamente, realizando agitación cada 2 minutos. Para finalizar, se sacaron del agua las semillas y se retiraron de la manta de cielo para colocarlas en cajas Petri con la ayuda de unas pinzas estériles; cada caja tenía un promedio entre 5 y 10 semillas. El porcentaje de germinación de semillas fue calculado de acuerdo a la Ecuación 3.4, contando el número de semillas germinadas respecto al total de

semillas sembradas en cada placa.

$$\% \text{germinación} = \frac{\text{Total semillas germinadas}}{\text{Total semillas sembradas}} \times 100 \quad (3.4)$$

### 3.8.3. Acoplamiento molecular

Para la identificación del posible mecanismo de acción del ácido gálico y la quercetina (compuestos fenólicos presentes en la muestra) sobre la inhibición de la acetohidroxiácido sintetasa (AHAS) se utilizó la estructura cristalina de la enzima (19TC) extraída de <https://www.rcsb.org/search> y la del ácido gálico y quercetina (obtenidas de <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>). Las estructuras se procesaron usando el módulo DockPrep de UCSF Chimera 1.14. Posteriormente, se ejecutó el Docking con el software AutodockVina con un tamaño de caja de 40 X 50 X 47 Å en las coordenadas -10.00, 109.30, 70.00.

## 3.9. Análisis estadístico

Con base al diseño experimental, se realizó el análisis de regresión y el modelo de superficie de respuesta mediante el uso del Software Statgraphics. Los resultados fueron expresados como el promedio  $\pm$  desviación estándar de los datos obtenidos experimentalmente por triplicado. De la misma manera se realizó el análisis de varianza (ANOVA) para determinar los coeficientes de regresión ( $\beta$ ) lineal, cuadrática y sus interacciones.

# IV.RESULTADOS Y DISCUSIÓN

## 4.1. Caracterización de la materia prima

La caracterización físico-química de la cáscara de mango manila en estado fresco se presenta en la Tabla 4.1, junto con los valores reportados en la literatura. Los análisis se realizaron por triplicado, siguiendo procedimientos estandarizados.

Tabla 4.1. Caracterización físico-química de la matriz externa del mango Manila en estado fresco

Propiedad	Valor	Referencia	
		MF	M
pH	4.2±0.2	4.67±0.02**	4.66±0.02**
Sólidos solubles totales (SST)	5.0±0.4 °Brix	10.07*	21.87*
Acidez titulable (AT)	0.40±0.02 % (ác.cítrico)	1.55*	0.16*
Índice de madurez (IM)	12.4±1.41	8.07*	20.49*

MF. Madurez fisiológica M. Madurez consumo  
(Ribeiro *et al.*, 2015)\* (Rivas-Robles *et al.*, 2020)\*\*

En los valores de referencia de acidez titulable (AT), pH y sólidos solubles totales (SST), se observa que, a medida que avanza el proceso de maduración, la acidez del mango disminuye, lo que conlleva un incremento en el pH, así como un aumento en el contenido de SST. Al comparar las cáscaras de mango analizadas, se encontró que sus valores son muy similares a los reportados por Ribeiro *et al.* (2015) y Rivas-Robles *et al.* (2020). Con base en estos resultados, se concluye que el lote de mango Manila evaluado se encontraba en estado de madurez para consumo, ya que la mayoría de los parámetros físico-químicos medidos coinciden con los valores característicos de esta etapa. El estado de madurez de los frutos constituye un factor determinante en la concentración y composición de compuestos bioactivos presentes en su matriz. Durante el proceso de maduración, se desencadenan diversas reacciones bioquímicas que modifican significativamente el perfil fitoquímico del fruto. Entre dichas transformaciones se encuentra la biosíntesis de carotenoides, compuestos fenólicos, compuestos volátiles y otros metabolitos secundarios, los cuales desempeñan un papel fundamental en las propiedades funcionales y sen-

soriales del alimento (Dantas *et al.*, 2013). Estas modificaciones, propias del proceso madurativo, inciden directamente en la capacidad antioxidante del fruto, la cual tiende a incrementarse conforme avanza el grado de madurez. Esta relación se ha atribuido principalmente al aumento en la concentración de antioxidantes naturales como polifenoles y vitamina C, así como a la generación de nuevas moléculas bioactivas derivadas de rutas metabólicas específicas activadas durante esta etapa (Batista *et al.*, 2018).

## 4.2. Optimización del proceso de extracción con y sin ultrasonido

### 4.2.1. Extracción de CFT con agua y etanol

Con base en las muestras obtenidas mediante la realización del método colorimétrico Folin Ciocalteu, la Tabla 4.2 muestra los resultados del CFT de extractos de cáscara de mango obtenidos con y sin aplicación de ultrasonido. Los extractos obtenidos de agua con mayor CFT fueron de  $3504.07 \pm 66.88$  mg GAE/100g de muestra seca para la ECV y de  $4411.05 \pm 9.96$  mg GAE/100 g de muestra seca, para el caso de la EAU.

Se puede observar que la cantidad de CFT presente en la EAU es aproximadamente un 25 % mayor que la presentada en la ECV. Esto es esto se debe a que la EAU es una técnica que facilita la extracción de los compuestos de interés. Kobus *et al.* (2022) reportaron que la eficiencia de la EAU aumenta, dependiendo de la sustancia bioactiva, cuando se aumenta la intensidad del ultrasonido, lo que provoca una mayor desintegración del tejido vegetal y una mejor penetración de los disolventes, relacionada con un rápido colapso de las burbujas de cavitación. Por otro lado Martínez-Ramos *et al.* (2020) explican que la intensificación de la lixiviación puede deberse al colapso de estas burbujas de gas en el solvente líquido. Esta ruptura ocurre por efecto de colisiones interpartículas y las ondas generadas por la cavitación, lo que ocasiona una reducción en el tamaño de partícula y un aumento en el área superficial. Asimismo, esta eficiencia se ve influenciada por la frecuencia, la relación sólido-líquido, el tipo, la concentración del disolvente, su pH y el ciclo de trabajo (Continuo o pulsado).

Por otro lado los extractos de etanol obtenidos con mayor CFT de  $3761.58 \pm 170.11$  mg GAE/100 g muestra seca, para la ECV y de  $4027.21 \pm 158.01$  mg GAE/100 g muestra seca para la EAU. Con ello se observa que la cantidad de CFT en la EAU es aproximadamente un 7% mayor que la presentada en la ECV. En términos generales, se pudo observar que ambos disolventes extraen una cantidad similar de compuestos fenólicos. Resultados similares fueron reportados por Mokrani & Madani (2016) quienes obtuvieron extractos de durazno con un CFT de 182 mg GAE/100 g m.s para agua y 178 mg GAE/100 g m.s en etanol acuoso al 60%. De manera semejante, estudios reportados por Quintana-Obregón *et al.* (2019) obtuvieron extractos de mango ataulfo con un CFT de  $7578 \pm 10.09$  mg GAE/ 100 g m.s empleando etanol acuoso al 80%. Sin embargo, algunos autores han reportado resultados contrarios. Por ejemplo, Do *et al.* (2014) encontraron que en extractos de *limnophila aromatica* se obtiene una mayor cantidad de compuestos fenólicos utilizando etanol como solvente para la extracción de compuestos fitoquímicos, alcanzando valores de  $40.50 \pm 0.88$  mg GAE/100 g m.s, en comparación con 6.25 mg GAE/100g m.s.

Por ultimo, se observo que para la extracciones de agua y etanol a una temperatura de 60°C (experimentos 7, 8 y 9) ya no existe un aumento en el CFT, para ambos solventes, lo anterior es debido a que una alta temperatura de operación, puede provocar la degradación de los compuestos fenólicos. Estudios realizados por Ortiz *et al.* 2023 quienes obtuvieron extractos acuosos y de etanol de hojas de fresa, observaron que a una temperatura mayor a los 50°C comenzaba a disminuir el CFT reduciendo de  $26.04 \pm 0.11$  mg GAE/g m.s a  $22.06 \pm 0.24$  mg GAE/ g m.s en agua (70°C), asimismo disminuye de  $27.78 \pm 0.18$  mg GAE/g m.s a  $26.63 \pm 0.14$  mg GAE/ g m.s en etanol (70°C). Otros estudios, como los realizados por Rasheed *et al.* 2012 muestra que para extracción de CFT en piña, para temperaturas mayores de la óptima de 35°C disminuye la cantidad de CFT obtenida teniendo como resultado una disminución  $117.7$  mg GAE/ 100g m.s a  $98.22$  mg GAE/100g m.s para una temperatura de 40°C.

En el caso del ultrasonido estudios reportados por Alara *et al.* 2021 indica que el rendimiento de extracción se puede ver afectado debido al aumento en el tiempo de aplicación del US, lo cual es debido al efecto de sonolisis que el US provoca, cuando la cavitación ocurre en una extensa superficie del solido, el colapso de la burbuja no se da de forma esférica, lo que ocasiona que se generan la expulsión de grande chorros de líquido hacía la superficie. Los chorros expulsados así como las ondas

que genera puede facilitar el daño en la superficie, como ocasionar el calentamiento del medio. Este colapso provoca cambios en la morfología, composición y reactividad de la superficie, así como la generación de compuestos no deseados y radicales libres, provocando una disminución de la calidad de los compuestos fenólicos extraídos.

También se puede concluir que estudios realizados por Serna Cock & Torres León (2015) indican un valor de  $3587.71 \pm 100.46$  mg GAE/100 g m.s para la variedad Tommy Atkins y  $4671.02 \pm 162.74$  mg GAE/100 g m.s para la variedad Keitt, resultando similar a los CFT presentados en este trabajo.

Tabla 4.2. CFT obtenidos a partir de extracción con y sin ultrasonido

No.	Factores		Potencia Ultrasonica (%)	Agua	Etanol
	x <sub>1</sub>	x <sub>2</sub>		CFT*	CFT*
1	-1	-1	0	2950.94±68.00 <sup>a</sup>	1708.58±14.25 <sup>a</sup>
			100	4411.05±9.96 <sup>b</sup>	3648.77±41.97 <sup>b</sup>
2	0	-1	0	3178.01±5.30 <sup>a</sup>	1698.14±134.75 <sup>a</sup>
			100	3829.42±73.08 <sup>b</sup>	4027.21±158.01 <sup>b</sup>
3	1	-1	0	3468.54±44.86 <sup>a</sup>	1718.37±23.85 <sup>a</sup>
			100	3512.73±69.95 <sup>a</sup>	3622.85±78.11 <sup>b</sup>
4	-1	0	0	2945.95±49.16 <sup>b</sup>	3761.58±170.11 <sup>b</sup>
			100	2504.75±12.54 <sup>a</sup>	3398.67±20.45 <sup>a</sup>
5	0	0	0	2885.42±19.61 <sup>a</sup>	3555.22±140.73 <sup>a</sup>
			100	2980.44±44.29 <sup>a</sup>	3414.30±50.00 <sup>a</sup>
6	1	0	0	3504.07±66.88 <sup>b</sup>	3747.9±181.27 <sup>b</sup>
			100	3273.44±74.21 <sup>a</sup>	3422.26±34.40 <sup>a</sup>
7	.1	1	0	3051.52±32.51 <sup>a</sup>	3724.36±140.57 <sup>a</sup>
			100	3048.69±33.95 <sup>a</sup>	3895.76±54.30 <sup>a</sup>
8	0	1	0	3182.34±47.17 <sup>a</sup>	3605.13±181.14 <sup>a</sup>
			100	3182.17±46.35 <sup>a</sup>	3891.97±44.90 <sup>a</sup>
9	1	1	0	3361.96±53.30 <sup>a</sup>	3692.65±129.81 <sup>a</sup>
			100	3359.46±59.77 <sup>a</sup>	3821.85±93.38 <sup>a</sup>

Valores expresados como media ± más desviación estándar

x<sub>1</sub> Tiempo

x<sub>2</sub> Temperatura

\*mg GAE/100g m.s

#### 4.2.2. Evaluación de la Actividad Antioxidante

Se determino la Actividad Antioxidante (AA) a partir de pruebas realizadas con los extractos óptimos usando la técnica ABTS. La Tabla 4.3 muestra los resultados obtenidos de la AA a partir de la optimización del proceso de ECV y EAU, el va-

lor más alto fue la ECV para agua de  $114.03 \pm 1.62$  mg TROLOX/100 g de muestra seca (30min,  $60^{\circ}\text{C}$ ), mientras que para el caso de la EAU el valor más alto fue de  $116.36 \pm 1.05$  mg TROLOX/100 g de muestra seca (30min,  $20^{\circ}\text{C}$ ). La AA presente en los extractos de agua fue solo 2% mayor en la EAU en comparación a la presente en las pruebas realizadas con los extractos obtenidos a partir de ECV. En el caso del análisis de los extractos obtenidos usando etanol los resultados con mayor valor fueron de  $120.27 \pm 0.31$  mg TROLOX/100 g de muestra seca para la ECV (30min,  $20^{\circ}\text{C}$ ) y de  $119.94 \pm 0.16$  mg TROLOX/100 g de muestra seca para la EAU (10min,  $60^{\circ}\text{C}$ ).

De acuerdo a los resultados obtenidos en el ensayo ABTS, se puede considerar que el uso del etanol presenta una mayor cantidad de AA que con el uso de agua como solvente. Se puede observar para etanol a una temperatura de  $40^{\circ}\text{C}$  no se presentan cambios en la AA (Exp 4, 5 y 6), para el caso del agua a la misma temperatura tampoco se presentaron diferencias significativas en la AA (Exp 5 y 6). Estudios realizados por Fernández-Palmar *et al.* (2016) indica que la AA para pulpa de mango de la variedad Tommy Atkins fue de 0.18 mM TROLOX/g (450.52 mg TROLOX/100g muestra seca), como se puede observar esta variedad de mango presenta una AA mayor a la reportada en este caso de estudio.

Finalmente se puede determinar que el uso de etanol es más eficiente en la AA de compuestos fenólicos de cáscara de mango, esto es debido a la polaridad del disolvente, ocasionando que el radical ABTS se vea afectado por la concentración de etanol. Resultados reportados por Castañeda-Valbuena *et al.* 2021 indican un rango de valores para cáscara de mango (variedad Haden) de 239.13 mg TROLOX/g a 1155.83mg TROLOX/g muestra seca, por lo tanto se puede considerar que los resultados obtenidos son significativos para el ensayo realizado.

Tabla 4.3. AA obtenidos a partir de extracción con y sin ultrasonido

No.	Factores		Potencia Ultrasónica (%)	Agua	Etanol
	x <sub>1</sub>	x <sub>2</sub>		AA-ABTS+	AA-ABTS+
1	-1	-1	0	105.47±0.58 <sup>a</sup>	120.27±0.31 <sup>b</sup>
			100	111.81±1.06 <sup>b</sup>	117.06±0.17 <sup>a</sup>
2	0	-1	0	112.41±0.46 <sup>a</sup>	119.8±0.36 <sup>b</sup>
			100	115.50±1.06 <sup>b</sup>	118.17±0.31 <sup>a</sup>
3	1	-1	0	111.64±1.61 <sup>a</sup>	119.64±0.17 <sup>a</sup>
			100	116.36±1.05 <sup>b</sup>	119.12±0.53 <sup>b</sup>
4	-1	0	0	107.59±0.06 <sup>b</sup>	118.95±0.10 <sup>a</sup>
			100	98.38±2.30 <sup>a</sup>	119.31±0.44 <sup>a</sup>
5	0	0	0	110.88±0.74 <sup>a</sup>	118.96±0.27 <sup>a</sup>
			100	109.97±1.17 <sup>a</sup>	119.06±0.55 <sup>a</sup>
6	1	0	0	111.84±0.91 <sup>a</sup>	119.46±0.29 <sup>a</sup>
			100	113.25±1.15 <sup>a</sup>	119.72±0.24 <sup>a</sup>
7	-1	1	0	109.94±0.96 <sup>b</sup>	118.96±0.18 <sup>a</sup>
			100	96.02±2.13 <sup>a</sup>	119.94±0.16 <sup>b</sup>
8	0	1	0	110.86±0.24 <sup>b</sup>	118.85±0.22 <sup>a</sup>
			100	102.89±0.92 <sup>a</sup>	119.49±0.31 <sup>b</sup>
9	1	1	0	114.03±1.62 <sup>b</sup>	119.41±0.09 <sup>b</sup>
			100	110.06±1.32 <sup>a</sup>	118.85±0.33 <sup>a</sup>

Valores expresados como media ± más desviación estándar

x<sub>1</sub> Tiempo

x<sub>2</sub> Temperatura

+mg TROLOX/100g m.s

### 4.2.3. Superficie de respuesta de etanol con y sin ultrasonido

#### 4.2.3.1. Compuestos fenólicos convencional y con ultrasonido para etanol

La Figura 4.1 muestra el efecto del tiempo y temperatura sobre el CFT de los extractos de cáscara de mango obtenidos con y sin aplicación del ultrasonido utilizando como disolvente etanol. Los datos experimentales se ajustaron a un modelo de regresión cuadrática (Ecuación 3.3), en el caso de los datos obtenidos de la ECV, el modelo de regresión correspondiente a la Ecuación 4.1, se puede observar que el término lineal ( $x_2$ ) correspondiente a la temperatura y los términos cuadráticos de la ecuación fueron significativos ( $p < 0.05$ ). Por consiguiente el modelo de regresión cuadrática referente al TPC se ajustó de una manera adecuada con respecto a los datos experimentales como se muestra en la Figura 4.1A teniendo un ajuste de 0.981, mostrando un coeficiente de determinación  $R^2$  de 0.984, lo que indica que existe un 98.4 % de influencia de las variables sobre la capacidad de obtención de los compuestos fenólicos de interés.

Para los resultados obtenidos de la EAU, el modelo de regresión correspondiente a la Ecuación 4.2, se puede observar que el término lineal ( $x_2$ ) y los términos cuadráticos fueron significativos ( $p < 0.05$ ). Por lo que respecta al modelo de regresión referente al TPC se ajustó de manera adecuada con respecto a los datos experimentales como se muestra en la Figura 4.1B teniendo un ajuste de 0.750, mostrando un coeficiente de determinación  $R^2$  de 0.800, lo que indica que existe un 80 % de influencia de las variables sobre la capacidad de obtención de los compuestos fenólicos de interés.

Los mayores valores reportados en la parte experimental para la ECV fueron de  $3761.58 \pm 170.11$  mg GAE/100g m.s a un tiempo de 10 minutos y  $40^\circ\text{C}$  (Exp 4) y  $4027.21 \pm 158.01$  mg GAE/100g m.s. a un tiempo de 20 minutos y  $20^\circ\text{C}$  (Exp 2) para EAU. De acuerdo al modelo de regresión cuadrática, las variables óptimas para lograr el máximo rendimiento en la extracción del contenido fenólico ( $3965.77$  mg GAE/100 g m.s), se determinó en una temperatura de  $50^\circ\text{C}$  y 10 minutos para el caso de la ECV y de  $60^\circ\text{C}$  y 20 minutos para la EAU ( $3965.056$  mg GAE/100 g m.s).

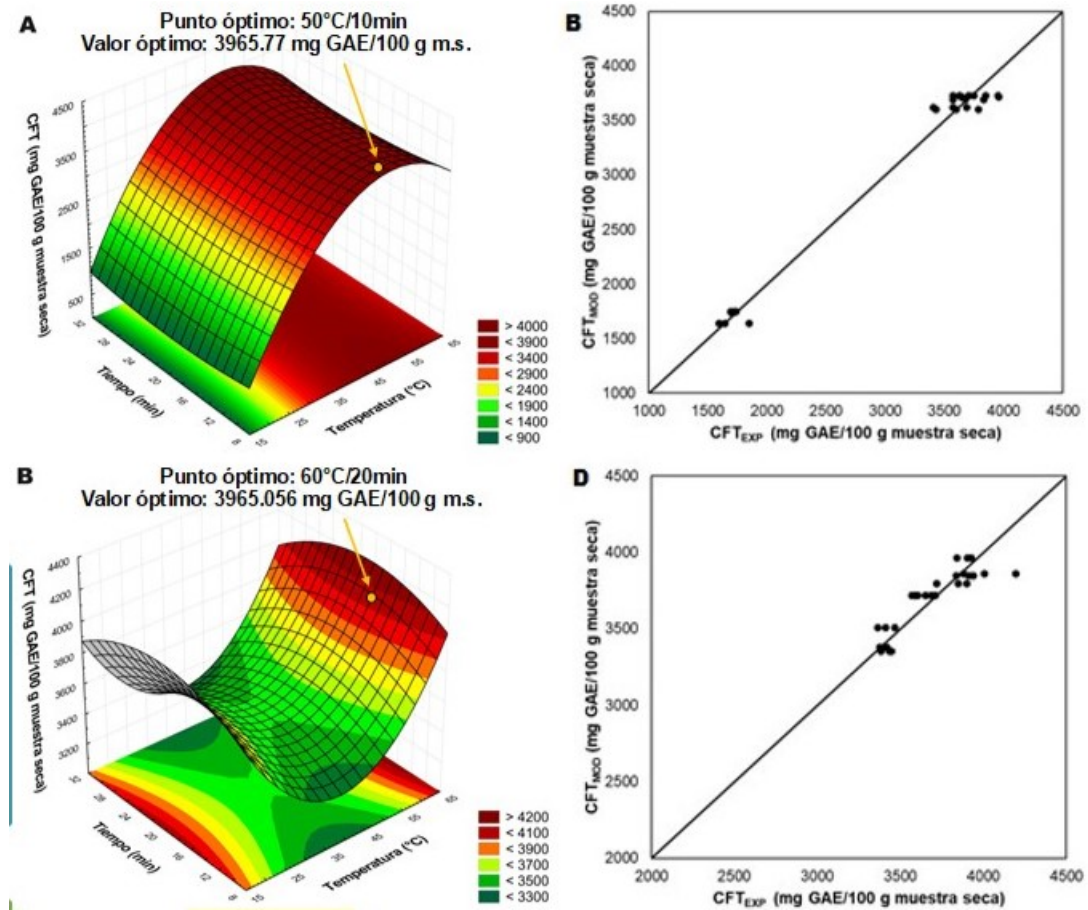


Figura 4.1. Gráficos de superficie de respuesta del modelo de regresión cuadrática y su ajuste que muestran el efecto del tiempo y temperatura sobre el CFT de los extractos de etanol de cáscara de mango mediante extracción convencional (A y B) y asistida con ultrasonido. (C y D)

Modelos de regresión cuadrática ( $x_1$ : tiempo;  $x_2$ : temperatura)

CFT (Convencional)

$$y_{CFT} = 3617.513 + 928.843x_2 + 106.076x_1^2 - 997.025x_2^2 \quad (4.1)$$

CFT (Ultrasonido)

$$y_{CFT} = 3506.947 + 51.789x_2 - 142.800x_1^2 + 406.321x_2^2 \quad (4.2)$$

#### 4.2.3.2. Actividad antioxidante convencional y con ultrasonido

La Figura 4.2 muestra el efecto del tiempo y la temperatura de los extractos obtenidos con y sin aplicación de ultrasonido utilizando como disolvente etanol, los

datos experimentales se ajustaron de acuerdo al modelo de regresión cuadrática (Ecuación 3.3), en el caso de los datos obtenidos de ECV, el modelo de regresión correspondiente a la Ecuación 4.3, se puede observar que el término lineal ( $x_2$ ) corresponde a la temperatura y los términos cuadráticos de la ecuación fueron significativos ( $p < 0.05$ ). Por consiguiente el modelo de regresión cuadrática referente a la AA se ajustó de una manera adecuada con respecto a los datos experimentales como se muestra en la Figura 4.2 A teniendo un ajuste de 0.734, mostrando un coeficiente de determinación  $R^2$  de 0.785, lo que indica que existe un 78.5 % de influencia de las variables sobre la actividad antioxidante de los compuestos fenólicos de interés.

Para los resultados obtenidos de la EAU, el modelo de regresión de la Ecuación 4.4 mostró que la interacción entre los términos lineales ( $x_1$ ) y ( $x_2$ ), tiempo y temperatura respectivamente, así como los términos cuadráticos fueron significativos ( $p < 0.05$ ). Por lo que respecta al modelo de regresión referente a la AA se ajustó de manera adecuada a los datos experimentales como se muestra en la Figura 4.2B teniendo un ajuste de 0.835 mostrando un coeficiente de determinación  $R^2$  de 0.867, lo que indica que existe un 86.7 % de influencia de las variables sobre la actividad antioxidante de los compuestos fenólicos de interés.

Los mayores valores reportados en la parte experimental para la ECV fueron de  $120.27 \pm 0.31$  mg TROLOX/100g m.s a un tiempo de 10 min y  $20^\circ\text{C}$  (Exp 1) y  $119.94 \pm 0.16$  mg TROLOX/100 g m.s. a un tiempo de 10 min y  $60^\circ\text{C}$  (Exp 7) para EAU. De acuerdo al modelo de regresión cuadrática, las variables óptimas para lograr el máximo rendimiento en la actividad antioxidante ( $120.256$  mg TROLOX/100 g m.s), se determinó en una temperatura de  $20^\circ\text{C}$  y 10 min para el caso de la ECV y de  $60^\circ\text{C}$  y 10 min para la EAU ( $119.983$  mg TROLOX/100 g m.s).

Modelos de regresión cuadrática ( $x_1$ : tiempo;  $x_2$ : temperatura)

AA - ABTS (Convencional)

$$y_{AA} = 118.964 - 0.416x_2 + 0.270x_1x_2 + 0.240x_1^2 + 0.366x_2^2 \quad (4.3)$$

AA - ABTS (Ultrasonido)

$$y_{AA} = 119.299 + 0.228x_1 + 0.654x_2 - 0.787x_1x_2 - 0.589x_1^2 \quad (4.4)$$

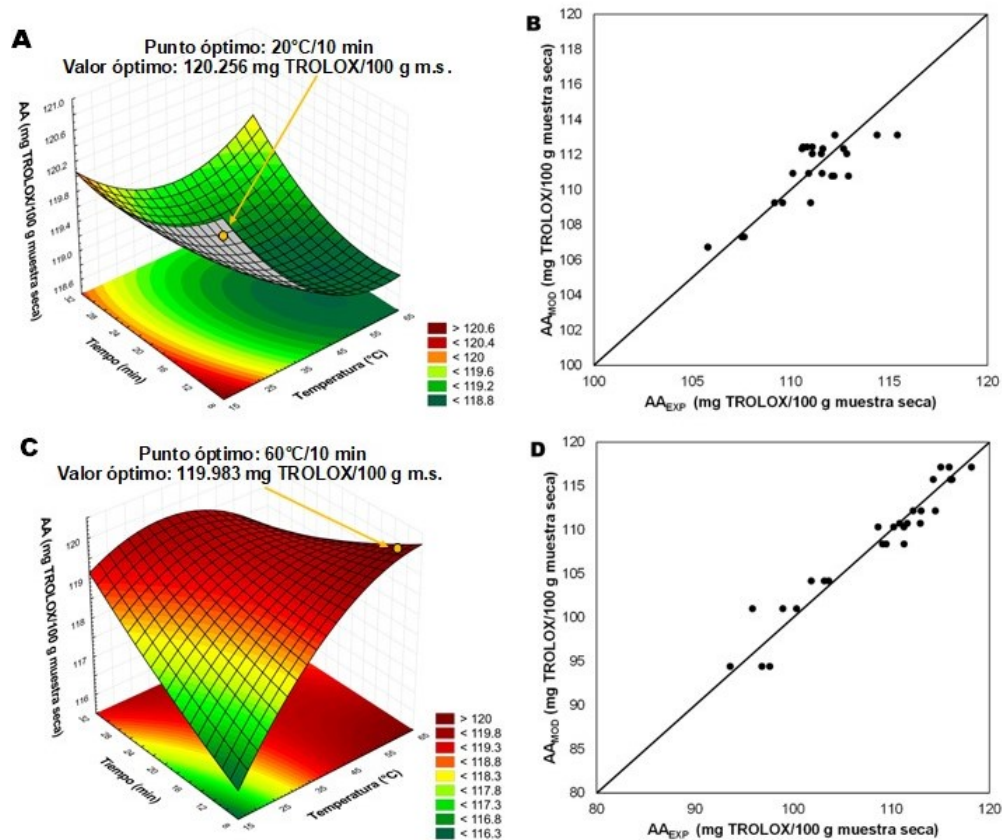


Figura 4.2. Gráficos de superficie de respuesta del modelo de regresión cuadrática y su ajuste que muestran el efecto del tiempo y temperatura sobre la AA de los extractos de etanol de cáscara de mango mediante extracción convencional (A y B) y asistida con ultrasonido (C y D).

#### 4.2.4. Superficie de respuesta de agua con y sin ultrasonido

##### 4.2.4.1. Compuestos fenólicos convencional y con ultrasonido

La Figura 4.3 muestra el efecto del tiempo y temperatura sobre el CFT de los extractos de cáscara de mango obtenidos con y sin aplicación del ultrasonido utilizando como disolvente agua. Los datos experimentales se ajustaron a un modelo de regresión cuadrática (Ecuación 3.3), en el caso de los datos obtenidos de la ECV, en el modelo de regresión de la Ecuación 4.5, se puede observar que el término lineal ( $x_2$ ) de temperatura y los términos cuadráticos de la ecuación fueron significativos ( $p < 0.05$ ). Por consiguiente el modelo de regresión cuadrática referente al TPC se ajustó de una manera adecuada con respecto a los datos experimentales como se muestra en la Figura 4.3A teniendo un ajuste de 0.822, mostrando un coeficiente de determinación  $R^2$  de 0.856, lo que indica que existe un 85.6 % de influencia de las variables sobre la capacidad de obtención de los compuestos fenólicos de interés.

Para los resultados obtenidos de la EAU, el modelo de regresión correspondiente a la Ecuación 4.6, se puede observar que el término lineal ( $x_2$ ) y los términos cuadráticos fueron significativos ( $p < 0.05$ ). Por lo que respecta al modelo de regresión referente al TPC se ajustó de manera adecuada con respecto los datos experimentales como se muestra en la Figura 4.3B teniendo un ajuste de 0.782, mostrando un coeficiente de determinación  $R^2$  de 0.824, lo que indica que existe un 82.4 % de influencia de las variables sobre la capacidad de obtención de los compuestos fenólicos de interés.

Los mayores valores reportados en la parte experimental para la ECV fueron de  $3504.07 \pm 66.88$  mg GAE/100g m.s a un tiempo de 30 min y  $40^\circ\text{C}$  (Exp 6) y  $4411.05 \pm 9.96$  mg GAE/100g m.s. a un tiempo de 10 min y  $20^\circ\text{C}$  (Exp 1) para EAU. De acuerdo al modelo de regresión cuadrática, las variables óptimas para lograr el máximo rendimiento en la extracción del contenido fenólico ( $3470.26$  mg GAE/100 g m.s), se determinó en una temperatura de  $20^\circ\text{C}$  y 30 minutos para el caso de la ECV y de  $20^\circ\text{C}$  y 10 min para la EAU ( $4196.82$  mg GAE/100 g m.s).

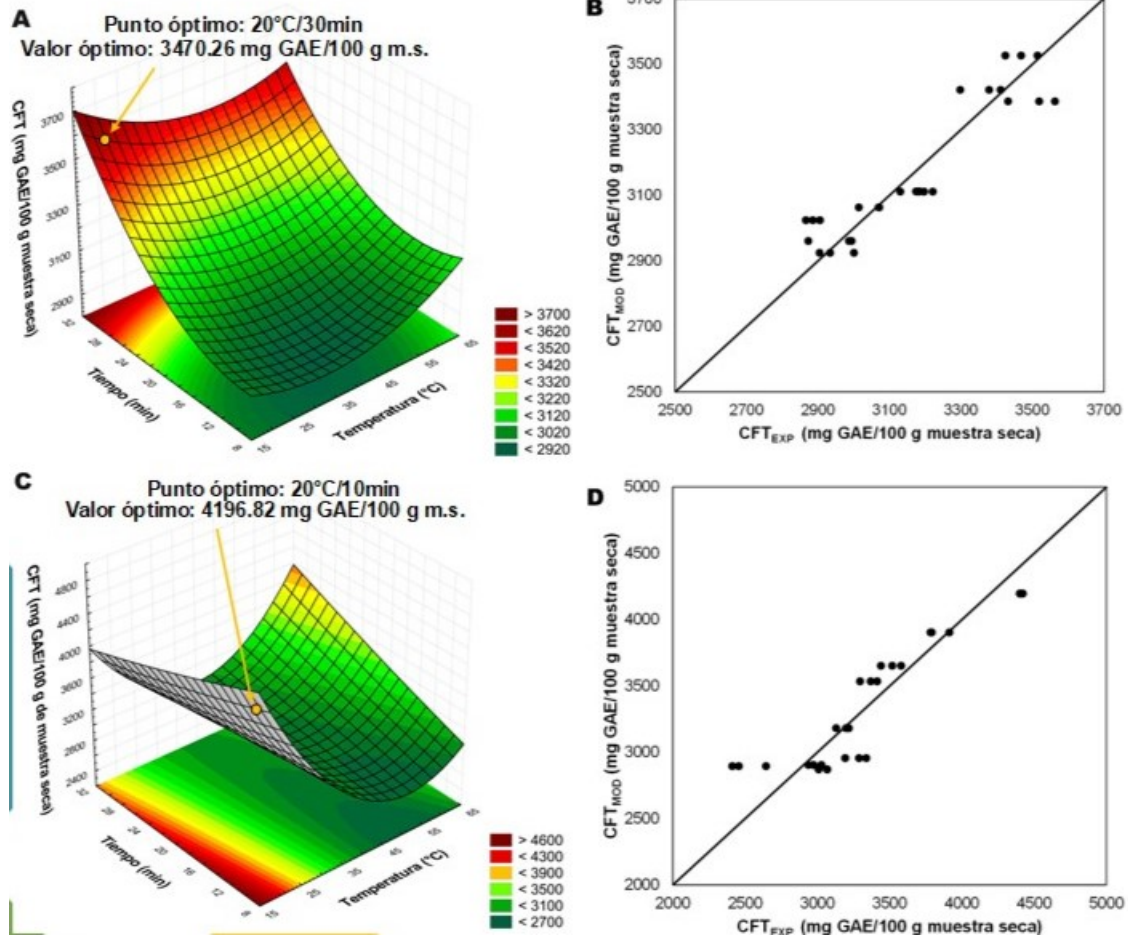


Figura 4.3. Gráficos de superficie de respuesta del modelo de regresión cuadrática y su ajuste que muestran el efecto del tiempo y temperatura sobre el CFT de los extractos de agua de cáscara de mango mediante extracción convencional (A y B) y asistida con ultrasonido (C y D).

Modelos de regresión cuadrática ( $x_1$ : tiempo;  $x_2$ : temperatura)

CFT (Convencional)

$$y_{CFT} = 3024.094 + 231.028x_1 - 51.792x_1x_2 + 131.574x_1^2 + 87.239x_2^2 \quad (4.5)$$

CFT (Ultrasonido)

$$y_{CFT} = 2905.536 - 360.481x_2 + 320.273x_1x_2 + 637.711x_2^2 \quad (4.6)$$

#### 4.2.4.2. Actividad antioxidante convencional y con ultrasonido

La Figura 4.4 muestra el efecto del tiempo y la temperatura representa el efecto del tiempo y temperatura de los extractos obtenidos con y sin aplicación de ultrasonido utilizando como disolvente agua. Los datos experimentales se ajustaron de acuerdo al modelo de regresión cuadrática (Ecuación 3.3), en el caso de los datos obtenidos de ECV, en el modelo de regresión de la Ecuación 4.7, se puede observar que los términos lineales ( $x_1$ ) y ( $x_2$ ) correspondiente al tiempo y la temperatura fueron significativos ( $p < 0.05$ ). Por consiguiente el modelo de regresión cuadrática referente a la AA se ajustó de una manera adecuada con respecto a los datos experimentales como se muestra en la Figura 4.4 A teniendo un ajuste de 0.725, mostrando un coeficiente de determinación  $R^2$  de 0.778, lo que indica que existe un 77.8 % de influencia de las variables sobre la actividad antioxidante de los compuestos fenólicos de interés.

Para los resultados obtenidos de la EAU, en el modelo de regresión de la Ecuación 4.8 se puede observar que la interacción entre el término lineal ( $x_1$ ) correspondiente al tiempo y el primer término cuadrático fueron significativos ( $p < 0.05$ ). Por lo que respecta al modelo de regresión referente a la AA se ajustó de manera adecuada con respecto los datos experimentales como se muestra en la Figura 4.4B teniendo un ajuste de 0.9918 mostrando un coeficiente de determinación  $R^2$  de 0.934, lo que indica que existe un 93.4 % de influencia de las variables sobre la actividad antioxidante de los compuestos fenólicos de interés.

Los mayores valores reportados en la parte experimental para la ECV fueron de  $114.03 \pm 1.621$  mg TROLOX/100g m.s a un tiempo de 30 min y  $60^\circ\text{C}$  (Exp 9) y  $119.94 \pm 0.16$  mg TROLOX/100g m.s. a un tiempo de 10 min y  $60^\circ\text{C}$  (Exp 7) para EAU. De acuerdo al modelo de regresión cuadrática, las variables óptimas para lograr el máximo rendimiento en la actividad antioxidante ( $113.185$  mg TROLOX/100 g m.s), se determinó en una temperatura de  $60^\circ\text{C}$  y 27.7 min para el caso de la ECV y de  $20^\circ\text{C}$  y 28.8 min para la EAU ( $117.181$  mg TROLOX/100 g m.s).

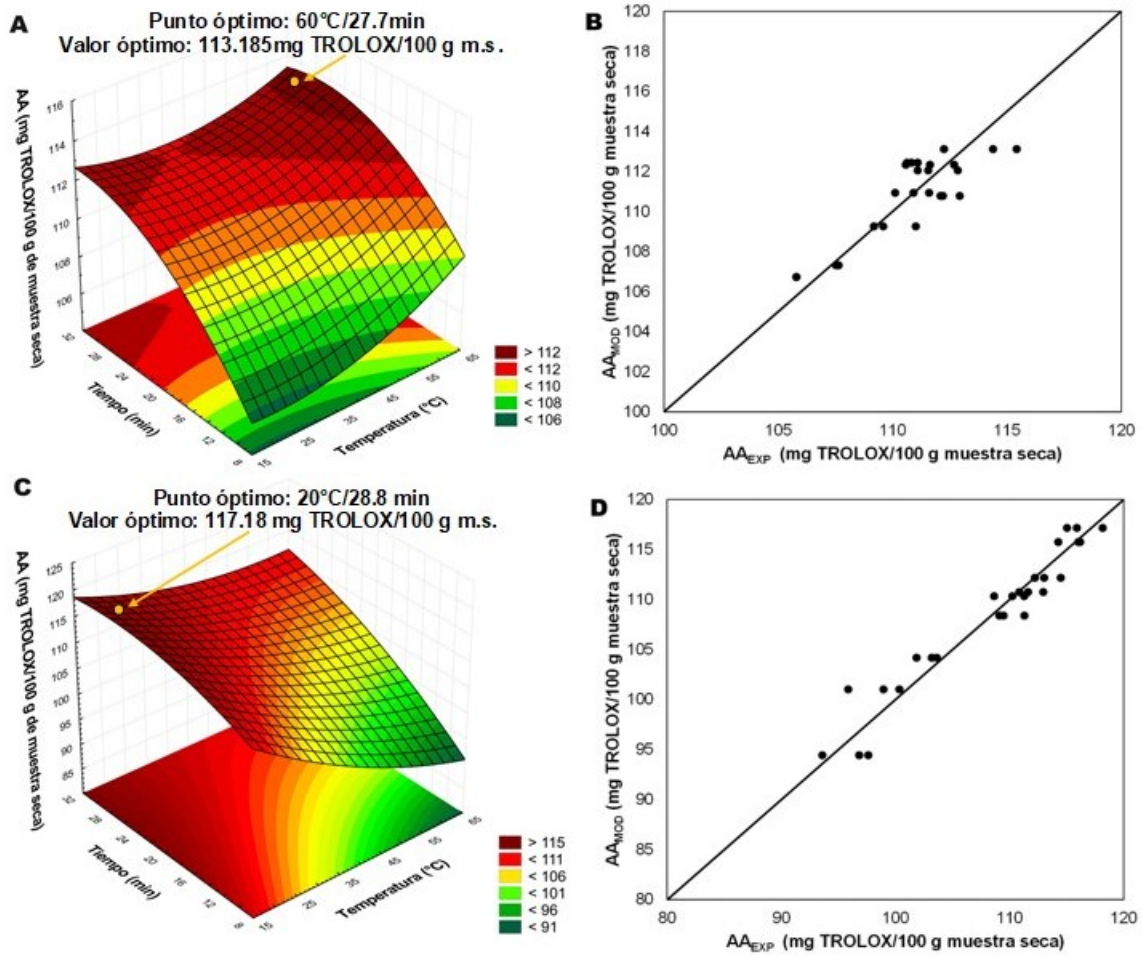


Figura 4.4. Gráficos de superficie de respuesta del modelo de regresión cuadrática y su ajuste que muestran el efecto del tiempo y temperatura sobre la AA de los extractos de agua de cáscara de mango mediante extracción convencional (A y B) y asistida con ultrasonido (C y D).

Modelos de regresión cuadrática ( $x_1$ : tiempo;  $x_2$ : temperatura)

AA - ABTS (Convencional)

$$y_{AA} = 110.938 + 2.364x_1 + 0.828x_2 - 1.248x_1^2 \quad (4.7)$$

AA - ABTS(Ultrasonido)

$$y_{AA} = 108.404 + 5.575x_1 - 5.783x_2 + 1.804x_1^2 \quad (4.8)$$

### **4.3. Caracterización del extracto e identificación de compuesto fenólicos presentes**

A partir de los extractos obtenidos para cada una de las técnicas empleadas, así como para cada uno de los disolventes utilizados, los extractos que presentaron un mayor CFT y AA caracterizados mediante Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) se muestran en la Tabla 4.4, presentándose la nomenclatura, así como la cantidad de ácido gálico y quercetina identificados mediante dicha técnica a partir de los punto óptimos obtenidos de acuerdo al modelo de regresión cuadrática.

Tabla 4.4. Compuestos fenólicos (mg/100 de muestra seca) identificados en la cáscaras de mango manila de las condiciones óptimas de extracción.

Nomenclatura	Disolvente	Extracción	Punto Óptimo	Ác. Gálico	Quercetina
ACV1	Agua	Convencional	30min - 20°C	2938.84±169.05 <sup>a</sup>	2262.87±354.76 <sup>a</sup>
ACV2			27.7 min - 60°C	3539.58±492.78 <sup>a</sup>	2121.82±433.36 <sup>a</sup>
AUS1		Asistida con ultrasonido	10min - 20°C	2954.29±196.51 <sup>a</sup>	1872.72±128.71 <sup>a</sup>
AUS2			28.8min - 20°C	4530.90±1341.56 <sup>a</sup>	3087.47±86.34 <sup>b</sup>
ECV1	Etanol	Convencional	10min - 50°C	4394.51±824.61 <sup>a</sup>	2559.36±90.55 <sup>a</sup>
ECV2			20min - 20°C	4550.53±468.14 <sup>a</sup>	2962.05±22.63 <sup>b</sup>
ECV3			10min - 20°C	4018.90±886.40 <sup>a</sup>	3718.69±149.73 <sup>c</sup>
EUS1		Asistida con ultrasonido	20min - 60°C	2972.47±831.78 <sup>a</sup>	3519.61±128.12 <sup>c</sup>
EUS2			10 min - 60°C	3807.66±1385.70 <sup>a</sup>	4214.12±35.92 <sup>d</sup>

Valores expresados como media ± desviación estándar (n=2). Diferentes letras minúsculas representan diferencias significativas ( $p<0.05$ ) entre los extractos óptimos para un solo solvente

Por medio de los extractos óptimos obtenidos se realizó la identificación de ácido gálico en la cáscara de mango. Se registró un tiempo de retención de  $3.656 \pm 0.30$  minutos el cual se muestra en la Figura 4.5. Para el caso del agua, los resultados más altos fueron de  $3539.58 \pm 492.78$  mg GAE/100g m.s a un tiempo de 27.7 min y una temperatura de  $60^\circ\text{C}$  (ACV2) y de  $4530.90 \pm 1341.56$  mg/100 g m.s a un tiempo de 28.8 min y  $20^\circ\text{C}$  (AUS2).

Por otro lado para el caso de las extracciones con etanol los resultados más altos fueron de  $4550.53 \pm 468.14$  mg/100 g m.s a 20 min y  $20^\circ\text{C}$  (ECV2) y de  $3807.66 \pm 1385.70$  mg GAE /100 g m.s a 10min y  $60^\circ\text{C}$  (EUS2). Se puede observar que la identificación de ácido gálico usando etanol como solvente de extracción tiene un mayor rendimiento en la extracción convencional ( $4550.53 \pm 468.14$  mg/100 g m.s), mientras que en la extracción asistida por ultrasonido el etanol presenta un menor rendimiento en comparación con el agua.

Finalmente, con respecto al ácido gálico se observó que para ambas técnicas y disolventes no se observaron diferencias significativas en el contenido de este compuesto fenólico. Los resultados obtenidos a partir de las condiciones óptimas de extracción son similares a las propuestas por Marcillo-Parra *et al.* (2021) que indica resultados de 2931 mg GAE/ 100 g de muestra seca para la variedad Tommy Atkins

En el caso de la identificación de Quercetina, la Figura 4.6 nos indica un tiempo de retención de  $3.142 \pm 0.30$  minutos. Para la extracción convencional, el valor más alto para el caso del agua fue de  $2262.87 \pm 354.76$  mg QUERCETINA/100 g m.s con tiempo de 30 min y  $20^\circ\text{C}$  (ACV1), asimismo el valor más alto obtenido para la EAU fue de  $3087.47 \pm 86.34$  mg QUERCETINA/100g m.s, con un tiempo de 28.8 min y  $20^\circ\text{C}$  (AUS2).

Por otro lado, en el caso de las extracciones convencionales con etanol el mayor valor obtenido fue de  $3718.69 \pm 149.73$  mg QUERCETINA/100 g m.s, con variables óptimas de 10 min y  $20^\circ\text{C}$  (ECV3). Se puede observar también que para la extracción con ultrasonido y etanol (EUS), el valor más alto fue de  $4214.12 \pm 35.92$  mg QUERCETINA/100g m.s, con variables óptimas de 10 min y  $60^\circ\text{C}$  (EUS2). Se puede considerar que la identificación de quercetina para ambos solventes presenta un mayor rendimiento en la EAU a comparación con el método ECV. Por lo tanto, para la Quercetina se encontró que se obtiene una mayor cantidad cuando el ultrasonido fue aplicado (AUS2 y EUS2). De forma general el ultrasonido favoreció una mayor cantidad de quercetina, así mismo el etanol fue el disolvente que presentó un 36 %

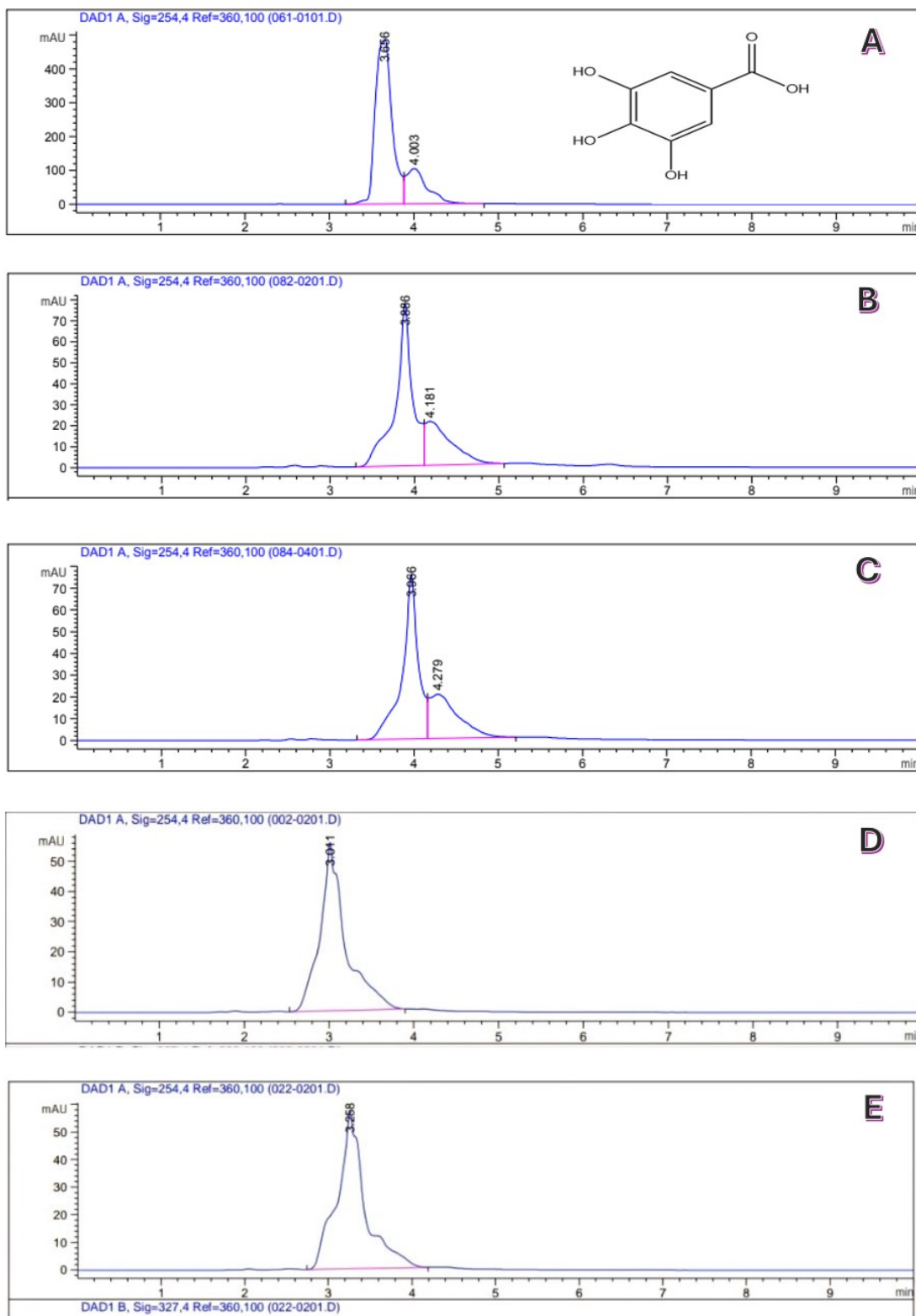


Figura 4.5. Estructura molecular y cromatogramas del ácido gálico (A) y de los extractos

de mejor eficacia en la extracción de quercetina a comparación con el agua como disolvente.

Finalmente podemos definir que utilizando etanol como solvente principal para la identificación de los CF presentes en las cáscaras de mango manila se obtiene un mayor rendimiento comparado con la utilización de agua.

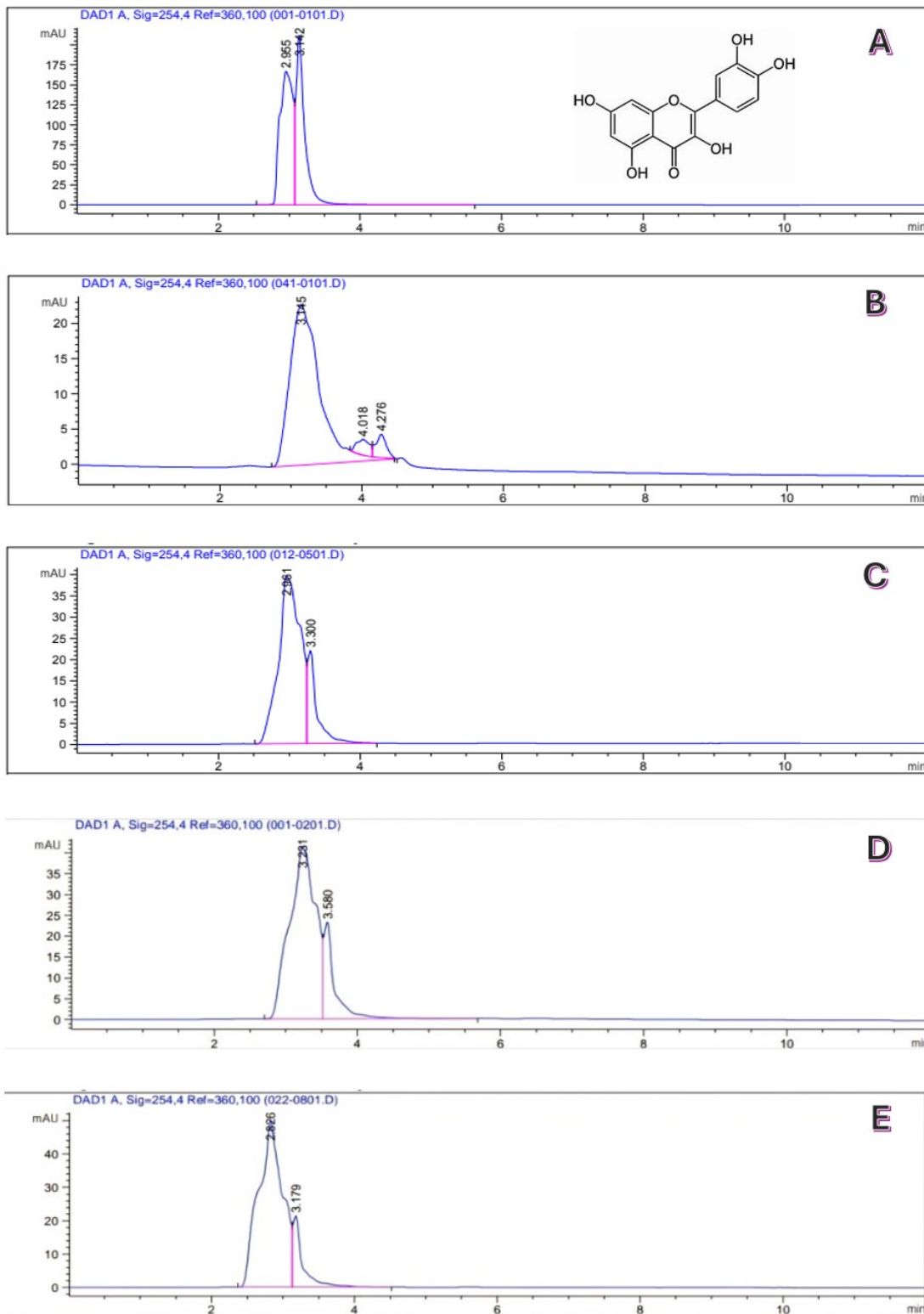


Figura 4.6. Espectros HPLC Quercetina

## 4.4. Inhibición de la germinación de semillas de pasto

### 4.4.1. Cultivos In vitro

Para la identificación del efecto inhibitorio de los extractos obtenidos de cáscara de mango por medio de la lixiviación convencional y asistida por ultrasonido se realizaron pruebas in vitro de semillas de pasto, así mismo se utilizó un medio control (agar bacteriológico - agar Murashige Skoog) para la realización de la prueba. En la Figura 4.7 se muestra el porcentaje de germinación de semillas de pasto de los extractos de mango manila con respecto a nuestro medio control. Esta prueba se realizó durante 21 días, para lo cual se contaron las semillas geminadas y al término de la prueba se calculó el porcentaje de germinación mediante la Ecuación 3.4, indicando que el extracto acuoso de las cáscaras de mango redujo alrededor del 40 % la germinación de semillas de pasto en comparación con las muestras *in vitro* en donde no fue aplicado. Esto se debe a que los extractos obtenidos de cáscara de mango presentan un efecto alelopático en las semillas de pasto. Resultados similares reportados por Elmetwally *et al.* (2022), quienes encontraron que los extractos acuosos de hojas de mango inhibieron la germinación de la *Phalaris minor* y *Malva praviiflora* alrededor de un 90 % y 42 % respectivamente. Estudios reportados por Kato-Noguchi & Kurniadie 2020, indican que los compuestos fenólicos entre los que se encuentran la quercetina, el ácido gálico, el ácido clorogénico, ácido benzoico, etc. presentan un efecto alelopático en el crecimiento de malezas, y los posibles mecanismos de acción de estas es por medio de su liberación a través del riego, por medio de la lluvia como un lixiviado foliar o a través de la descomposición de los residuos vegetales como lo son las cáscaras de mango. Finalmente con esto se puede definir que los extractos obtenidos de cáscara de mango presentan un efecto inhibitorio sobre el crecimiento de malezas.

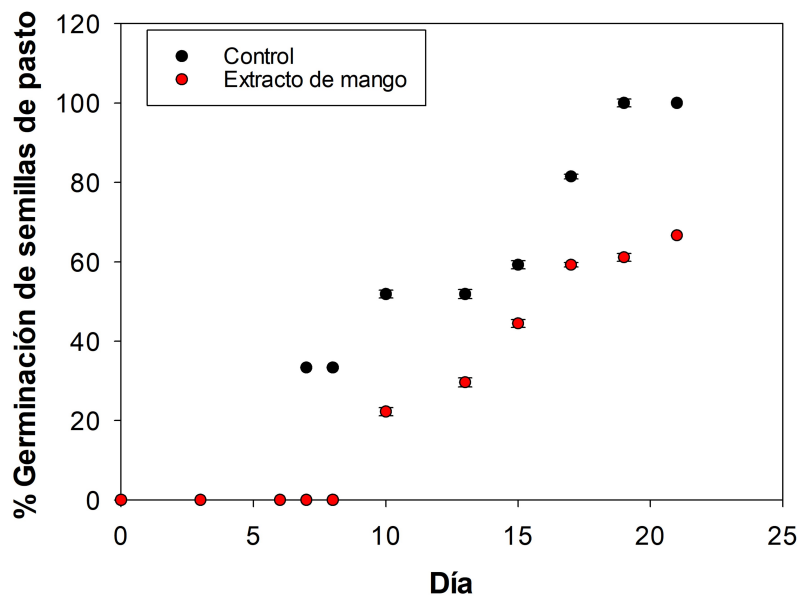


Figura 4.7. Germinación de semillas de pasto en respuesta al efecto del extracto de cáscaras de mango

#### 4.4.2. Acoplamiento Molecular (Docking molecular)

Se estudio la enzima AHAS ya que es precursora para el desarrollo vegetal

El presente trabajo evaluó la afinidad de unión de la enzima acetohidroxiácido sintasa (AHAS) con respecto a los compuestos fenólicos identificados mediante la técnica cromatográfica HPLC, para el caso de estudio se identificaron quercetina y ácido gálico presentes en extractos de cáscara de mango debido a que se infiere que fueron los responsables de promover la inhibición. En este sentido, se puede identificar que la quercetina presenta una mayor afinidad que la obtenida con el compuesto control, metil sulfometuron (-6.9 Kcal/mol), el cual se utilizó como referencia debido a que es el mayor componente presente en los herbicidas sintéticos; el metil sulfometuron pertenece al grupo químico de las sulfonilureas, el modo de acción de este herbicida es inhibiendo a la enzima acetolactato sintasa (ALS), también conocida como aceto-hidroxiácido sintasa (AHAS). En la Tabla 4.5 se puede observar que el metil sulfometuron tiene interacciones con los aminoácidos Gly498, Gln499, Met525, Gln580, Gly581, Met582, Val583 y FAD701. En este sentido, Meng *et al.* (2022), mediante acoplamiento molecular, encontraron que las sulfonilureas

pueden desencadenar la inactivación oxidativa de la enzima AHAS, el herbicida se une a la AHAS en una interfaz formada por dos subunidades adyacentes y se forman numerosas interacciones no covalentes con aminoácidos vecinos, como la interacción  $\pi$ - $\pi$  con TRP-574 y el enlace de hidrógeno con LYS-256, también encontraron que el grupo sulfonilo y el anillo aromático adyacente se sitúa en la entrada de un túnel que conduce al sitio activo. El uso excesivo de sulfonilureas ha generado resistencia en las malezas, gran parte se debe a la mutación de residuos específicos en el sitio activo del AHAS.

Tabla 4.5. Afinidad de unión e interacción de aminoácidos

Compuestos	Energía (Kcal/mol)	Aminoácidos
Metil Sulfo- meturon (Control)	-6.9	Gly498, Gln499, Met525, Gln580, Gly581, Met582, Val583, FAD701
Quercetina	-8.6	Ser588, Pro650, Leu652, Val671, Gln675, Arg679
Ácido Gálico	-6.1	Gln499, Gln595, Ser588, Leu589, His593, Lys648, Val 649, Pro650, Gln675

Las Figuras 4.8a, 4.8b ilustran las interacciones en 2D y 3D de la quercetina y ácido gálico con el receptor, respectivamente. El análisis de acoplamiento molecular reveló que la quercetina mostró la mejor interacción con la enzima AHAS, presentando una energía de afinidad de -8.6 kcal/mol. Este valor supera a la interacción del compuesto control (-6.9 kcal/mol), así como la de los ácidos gálico, cuyas energías de afinidad fueron de -6.1 kcal/mol. Resultados similares fueron reportados por Wu *et al.* (2021), quienes evaluaron la actividad herbicida de derivados de aciltiourea que contienen metilsulfona sobre la enzima AHAS, en diferentes malezas (*Echinochloa crusgal*, *Polypogon fugax*, *Digitaria adscendens*, *Brassica napus*, *Amaranthus retroflexus* y *Abutilon theophrasti*) los resultados *in vitro* mostraron que algunos derivados de la aciltiourea presentaron un adecuado efecto inhibitor en las malezas *Digitaria adscendens* y *Brassica napus*. Además, exploraron el mecanismo de interacción enzima-herbicida mediante un análisis de acoplamiento molecular, encontraron que las energías de enlace estuvieron en un rango de -6.1 a -8.0 kcal/mol, los compuestos con una menor energía de enlace son los que presentaron una mayor

inhibición en los experimentos in vitro.

Por otro lado, Anwar *et al.* (2023), evaluaron la fitotoxicidad del ácido ferúlico y el ácido gálico en tres especies de malezas (*sinapis arvensis*, *lolium multiflorum* y *parthenium hysterophorus*), ambos compuestos inhibieron la germinación de las malezas en un rango del 60 al 80 %, el posible mecanismo de interacción enzima-herbicida de estos compuestos fue evaluado en un análisis de acoplamiento molecular en donde encontraron que el ácido gálico y ácido ferúlico presentaron una energía de afinidad -5.055 y -4.272 kcal/mol, respectivamente. Los autores reportan que la formación de uno (HIS198) y dos enlaces de hidrógeno (THR286) con el ácido ferúlico y el ácido gálico, respectivamente, son los posibles responsables de la inhibición de la actividad fotosintética y por lo tanto del crecimiento de las malezas.

Por lo tanto, el estudio de la predicción de sitios de acción inexplorados con la quercetina y ácido gálico resulta de gran importancia para evaluar el uso de herbicidas de origen natural, comprender los sitios de acción de estos compuestos es vital para explicar y a largo plazo, manipular los efectos fisiológicos y bioquímicos que estos ejercen sobre las malezas.

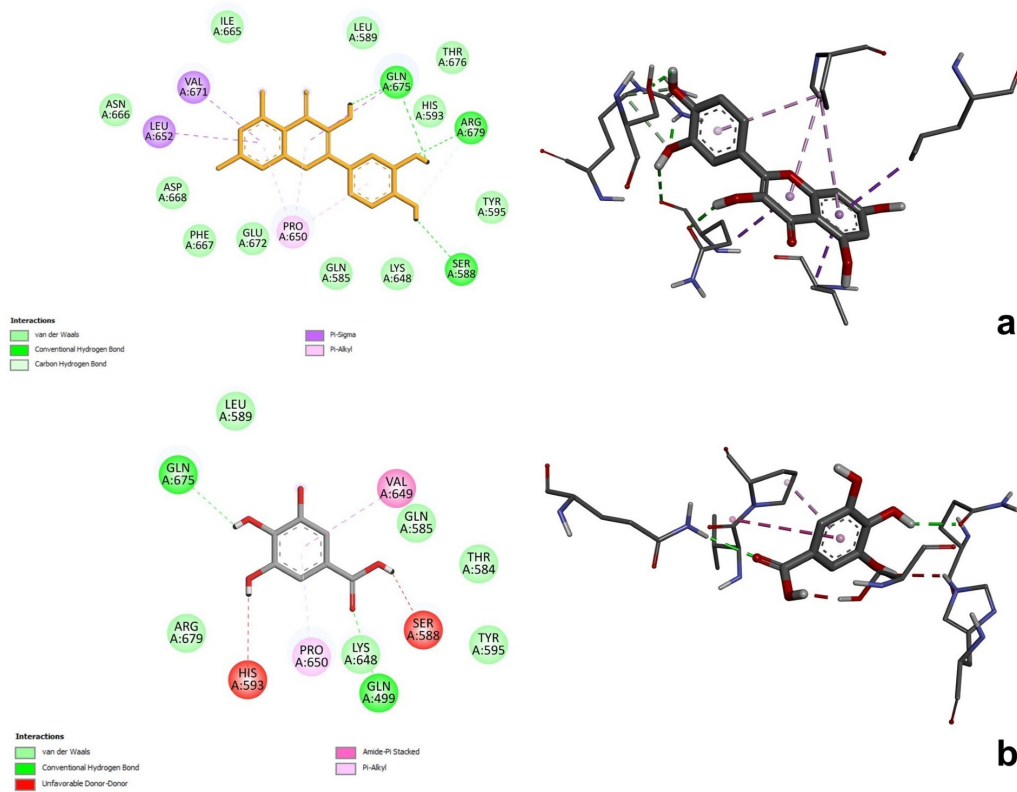


Figura 4.8. Representación en 2 y 3 dimensiones de las interacciones entre el ligando y el receptor para: a) Quercetina y b) Ácido gálico

# V.CONCLUSIONES

1. Con el anterior trabajo, se pudo determinar que la extracción asistida con ultrasonido presenta una mejor eficiencia en la extracción de compuestos presentes en la cáscara de mango, asimismo, se pudo determinar que el etanol debido a su polaridad presenta un mayor grado de extracción con respecto al uso de agua como solvente de extracción.
2. A partir de los análisis de la actividad antioxidante por medio del ensayo ABTS se pudo considerar que el etanol presenta un mayor valor que el presente en los ensayos realizados con las muestras obtenidas con agua.
3. De acuerdo a los resultados obtenidos en los gráficos de superficie de respuesta se pudo observar que las variables temperatura y tiempo tienen un 98.4 % de influencia en la extracciones realizadas con etanol por ECV. También se pudo observar que las variables presentan un 80 % de influencia para el caso de EAU. Por otro lado para el caso del agua presenta un 85.6 % para la ECV y un 82.4 % para la EAU.
4. Por otro lado para el caso de la actividad antioxidante, en los gráficos de superficie de respuesta se observó que las variables temperatura y tiempo presentan un 78.5 % de influencia para las extracciones con etanol por ECV y un 86.7 % de influencia para la EAU. Para el caso del agua, ésta presentó un 77.8 % de influencia para la ECV y un 93.4 % para la EAU.
5. Por medio de Cromatografía (HPLC) se pudo observar que la identificación de ácido gálico usando etanol como solvente de extracción tiene un mayor rendimiento en la extracción convencional, mientras que en la extracción asistida por ultrasonido el etanol presenta un menor rendimiento en comparación con el agua. Por otro lado, Se pudo considerar que la identificación de quercetina para ambos solventes presenta un mayor rendimiento en la EAU a comparación con el método ECV. De forma general el ultrasonido favoreció una mayor cantidad de quercetina, así mismo el etanol fue el disolvente que presentó un 36 % de mejor eficacia en la extracción de quercetina a comparación con el agua como disolvente.

6. Con la realización de la prueba *in vitro* para determinar el efecto inhibitorio de los compuestos fenólicos de los extractos obtenidos con cáscara de mango en semillas de pasto, se pudo determinar que el extracto acuoso obtenido presentó un 40 % de inhibición en la germinación de semillas con respecto a la muestra control donde no fue aplicado el extracto.
7. Finalmente a partir del análisis molecular de los compuestos fenólicos de interés (ácido gálico y quercetina) se pudo determinar que la quercetina presenta una mejor afinidad a la enzima AHAS, con respecto al compuesto control (*metil sulfometuron*), lo que nos podría indicar una utilidad como un posible bioherbicida.

# Bibliografía

- Alara, Oluwaseun Ruth, Abdurahman, Nour Hamid, & Ukaegbu, Chinonso Ishamel. 2021. Extraction of phenolic compounds: A review. *Current research in food science*, **4**, 200–214.
- Alvarez Iglesias, Lorena, et al. 2016. *Vicia faba L. for weed control: from biochemical evidences to field application*. Ph.D. thesis, Biología vegetal e ciencias do solo.
- Alvaro, Anzalone. 2007. Herbicidas: Modos y mecanismos de acción en plantas. *Universidad Centro Occidental "Lisandro Alvarado" (UCLA)*. Recuperado de <https://www.researchgate.net/.../259175751> Herbicidas Modos y mecanismos de a.
- Anwar, Sobia, Naseem, Saadia, & Ali, Zahid. 2023. Biochemical analysis, photosynthetic gene (psbA) down-regulation, and in silico receptor prediction in weeds in response to exogenous application of phenolic acids and their analogs. *Plos one*, **18**(3), e0277146.
- Badii, Mohammad H, & Varela, S. 2015. Insecticidas Organofosforados: Efectos sobre la Salud y el Ambiente. *Cultura Científica y Tecnológica*.
- Bailey, Karen L. 2014. The bioherbicide approach to weed control using plant pathogens. *Pages 245–266 of: Integrated Pest Management*. Elsevier.
- Barotto, Antonio José. 2021. Extracción verde de aceites esenciales. *Investigación Joven*, **8**.
- Batista, Patrício Ferreira, Lima, Maria Auxiliadora Coêlho de, Alves, Ricardo Elebão, & Façanha, Rafaela Vieira. 2018. Bioactive compounds and antioxidant activity in tropical fruits grown in the lower-middle São Francisco Valley. *Revista Ciência Agronômica*, **49**(4), 616–623.
- Butkhup, Luchai, Samappito, Wannee, & Samappito, Supachai. 2013. Phenolic composition and antioxidant activity of white mulberry (*Morus alba* L.) fruits. *International Journal of Food Science & Technology*, **48**(5), 934–940.
- Castañeda-Valbuena, Daniel, Ayora-Talavera, Teresa, Luján-Hidalgo, Celina, Álvarez-Gutiérrez, Peggy, Martínez-Galero, Nelda, & Meza-Gordillo, Rocío. 2021. Ultrasound extraction conditions effect on antioxidant capacity of mango by-product extracts. *Food and Bioproducts Processing*, **127**, 212–224.
- Cazares, Tomás Medina, Figueroa, Sarahyt S Gonzalez, & Robles, Enrique Rosales. 2022. MANEJO INTEGRADO DE MALEZA. *SOCIEDAD MEXICANA DE LA*

- CIENCIA DE LA MALEZA, 15.
- Choudhary, Poonam, Devi, Th Bidyalakshmi, Tushir, Surya, Kasana, Ramesh Chand, Popatrao, Dawange Sandeep, & K, Narsaiah. 2023. Mango seed kernel: A bountiful source of nutritional and bioactive compounds. *Food and Bioprocess Technology*, **16**(2), 289–312.
- CONASPROMANGO, AC. 2012. Plan Rector Nacional del Sistema Producto Mango. *Recuperado de: www.mangomexicano.com.mx*.
- Dantas, Ana Lima, Silva, Silvanda de Melo, Lima, Maria Auxiliadora Coêlho de, Dantas, Renato Lima, & Mendonça, Rejane Maria Nunes. 2013. Bioactive compounds and antioxidant activity during maturation of strawberry guava fruit. *Revista Ciência Agronômica*, **44**, 805–814.
- Dayan, Franck E, & Duke, Stephen O. 2014. Natural compounds as next-generation herbicides. *Plant physiology*, **166**(3), 1090–1105.
- Do, Quy Diem, Angkawijaya, Artik Elisa, Tran-Nguyen, Phuong Lan, Huynh, Lien Huong, Soetaredjo, Felycia Edi, Ismadji, Suryadi, & Ju, Yi-Hsu. 2014. Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. *Journal of food and drug analysis*, **22**(3), 296–302.
- Doménech, Javier. 2004. Plaguicidas: sus efectos en la salud humana. *Offarm: farmacia y sociedad*, **23**(7), 108–114.
- Dorantes-Salazar, EL, Báez-González, JG, Gastelúm-Martínez, É, Morales-Landa, JL, & García-Marquez, E. 2023. Determinación de actividad antioxidante en alimentos funcionales. *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*, **8**(1), 643–649.
- Duggleby, Ronald G, & Pang, Siew Siew. 2000. Acetohydroxyacid synthase. *Journal of biochemistry and molecular biology*, **33**(1), 1–36.
- Duke, SO, & Dayan, FE. 2011. 4.03-Bioactivity of herbicides. *Comprehensive biotechnology*, 23–35.
- Elmetwally, Ibrahim, Shehata, Said, Abdelgawad, Karima, & Elkhawaga, Fathia. 2022. Utilization of phenolic compounds extracted from agro-industrial wastes as natural herbicides. *Egyptian Journal of Chemistry*, **65**(2), 265–274.
- FAO. 2020. *Major Tropical Fruits Preliminary Market Results 2019*.
- Fernandes, Simone Y, de Araújo, Débora, Pontes, Montcharles S, Santos, Jaqueline S, Cardoso, Claudia AL, Simionatto, Euclésio, Martines, Marco AU, Antunes,

- Débora R, Grillo, Renato, Arruda, Gilberto J, *et al.* 2023. Pre-emergent bioherbicide potential of *Schinus terebinthifolia* Raddi essential oil nanoemulsion for *Urochloa brizantha*. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, **47**, 102598.
- Fernández-Palmar, Viluzca, Hernández, J, & Sulbarán, S. 2016. Caracterización físico-química y actividad antioxidante de frutos de mango (*Mangifera indica*) cv. Tommy Atkins. *Revista de la Facultad de Agronomía de La Universidad del Zulia*, **33**, 216–231.
- García-Mahecha, Maribel, Soto-Valdez, Herlinda, Carvajal-Millan, Elizabeth, Madera-Santana, Tomás Jesús, Lomelí-Ramírez, María Guadalupe, & Colín-Chávez, Citlali. 2023. Bioactive compounds in extracts from the agro-industrial waste of mango. *Molecules*, **28**(1), 458.
- Gerowitt, Bärbel, Bàrberi, Paolo, Darmency, Henri, Petit, Sandrine, Storkey, Jonathan, & Westerman, Paula. 2017. Weeds and biodiversity. *Weed research: expanding horizons*, 115–147.
- Guo, Yue, Liu, Changle, Long, Weihua, Gao, Jianqin, Zhang, Jiefu, Chen, Song, Pu, Huiming, & Hu, Maolong. 2022. Development and molecular analysis of a novel acetohydroxyacid synthase rapeseed mutant with high resistance to sulfonyleurea herbicides. *The Crop Journal*, **10**(1), 56–66.
- Hernández-Nolasco, Lilián. 2023. La cadena productiva del mango. Factor clave para el desarrollo local en la zona oriente del Istmo de Tehuantepec, Oaxaca. *Estudios sociales. Revista de alimentación contemporánea y desarrollo regional*, **33**(61).
- Hernández-Ríos, Ismael, Osuna-Ceja, Esteban Salvador, Pimentel-López, José, & García-Saucedo, Perla. 2022. CONTROL DE MALEZAS EN MAÍZ, FRIJOL, GIRASOL Y SORGO: Efecto de métodos de control bajo dos sistemas de siembra. *Agro-Divulgación*, **2**(6).
- Ilyasov, Igor R, Beloborodov, Vladimir L, Selivanova, Irina A, & Terekhov, Roman P. 2020. ABTS/PP decolorization assay of antioxidant capacity reaction pathways. *International journal of molecular sciences*, **21**(3), 1131.
- Kabir, Yearul, Shekhar, Hossain Uddin, & Sidhu, Jiwan S. 2017. Phytochemical compounds in functional properties of mangoes. *Handbook of mango fruit: Production, postharvest science, processing technology and nutrition*, 237–254.
- Kato-Noguchi, Hisashi, & Kurniadie, Denny. 2020. Allelopathy and allelopathic substances of mango (*Mangifera indica* L.). *Weed Biology and Management*,

- 20(4), 131–138.
- Kobus, Zbigniew, Krzywicka, Monika, Starek-Wójcicka, Agnieszka, & Sagan, Agnieszka. 2022. Effect of the duty cycle of the ultrasonic processor on the efficiency of extraction of phenolic compounds from *Sorbus intermedia*. *Scientific Reports*, **12**(1), 8311.
- Krumsri, Ramida, Ozaki, Kaori, Teruya, Toshiaki, & Kato-Noguchi, Hisashi. 2021. Isolation and identification of two potent phytotoxic substances from *Azela xylocarpa* for controlling weeds. *Applied Sciences*, **11**(8), 3542.
- Krumsri, Ramida, Iwasaki, Arihiro, Suenaga, Kiyotake, & Kato-Noguchi, Hisashi. 2022. Phytotoxic effects of *Senna garrettiana* and identification of phytotoxic substances for the development of bioherbicides. *Agriculture*, **12**(9), 1338.
- Le, Dung Tien, Yoon, Moon-Young, Kim, Young Tae, & Choi, Jung-Do. 2005. Two consecutive aspartic acid residues conferring herbicide resistance in tobacco acetohydroxy acid synthase. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Proteins and Proteomics*, **1749**(1), 103–112.
- Lee, Jungmin, Durst, ROBERT, & Wrolstad, RONALD. 2005. AOAC official method 2005.02: total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method. *Official methods of analysis of AOAC International*, **2**.
- Marcillo-Parra, Verónica, Anaguano, Mayra, Molina, Maritza, Tupuna-Yerovi, Diego Santiago, & Ruales, Jenny. 2021. Characterization and quantification of bioactive compounds and antioxidant activity in three different varieties of mango (*Mangifera indica* L.) peel from the Ecuadorian region using HPLC-UV/VIS and UPLC-PDA. *NFS Journal*, **23**, 1–7.
- Martemucci, Giovanni, Costagliola, Ciro, Mariano, Michele, Dâandrea, Luca, Napolitano, Pasquale, & DâAlessandro, Angela Gabriella. 2022. Free radical properties, source and targets, antioxidant consumption and health. *Oxygen*, **2**(2), 48–78.
- Martínez-Ramos, Tania, Benedito-Fort, José, Watson, Nicholas James, Ruiz-López, Irving I, Che-Galicia, Gamaliel, & Corona-Jiménez, Edith. 2020. 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*, **122**, 41–54.
- Meng, Fan-Fei, Sun, Xue-Wen, Shang, Ming-Hao, Zhang, Jia-Shuang, Niu, Cong-

- Wei, Li, Yong-Hong, Wang, Zhong-Wen, Wang, Jian-Guo, & Li, Zheng-Ming. 2022. Chemical preparation, degradation analysis, computational docking and biological activities of novel sulfonyleureas with 2, 5-disubstituted groups. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, **188**, 105261.
- Mokrani, Abderrahmane, & Madani, Khodir. 2016. Effect of solvent, time and temperature on the extraction of phenolic compounds and antioxidant capacity of peach (*Prunus persica* L.) fruit. *Separation and Purification Technology*, **162**, 68–76.
- Montiel, Rafael German Campos, Martínez, Javier Alonso Hernández, Acero, Armando Peláez, Soto, Iridiam Hernández, Munguía, Abigail Reyes, Montiel, Lucio González, *et al.* 2023. Tecnologías sustentables (microondas, ultrasonido y CO2 supercrítico) para extracción de compuestos bioactivos en propóleo. *Boletín de Ciencias Agropecuarias del ICAP*, **9**(Especial), 20–25.
- Organization, World Health, *et al.* 2010. Código internacional de conducta sobre la distribución y utilización de plaguicidas: directrices para el registro de plaguicidas.
- Organization, World Health, *et al.* 2020. *Clasificación Recomendada Por la OMS de Los Plaguicidas Por El Peligro Que Presentan Y Directrices Para la Clasificación 2019*. World Health Organization.
- Ortiz, Magdalena Lizbeth Sailema, Garcés, Estefanía Carolina Salazar, Duchicela, Ronald Hendry Palacios, Borja, Washington Xavier Carrera, & Mendoza, Cristian Alexander Zambrano. 2023. Efecto de solvente y temperatura para la extracción de compuestos fenólicos en hojas de fresa. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*, **7**(3), 2563–2575.
- Pacanoski, Zvonko. 2015. Bioherbicidas. *In: Herbicides, Physiology of Action, and Safety*. IntechOpen.
- Pedrerros, Alberto. 2010. Manejo de malezas en producción con base agroecológica. *Fundamentos y técnicas de producción, y experiencia en la Región de Los Ríos*, 249.
- Powles, Stephen B, & Yu, Qin. 2010. Evolution in action: plants resistant to herbicides. *Annual review of plant biology*, **61**, 317–347.
- Prieto-Martínez, Fernando D, Arciniega, Marcelino, & Medina-Franco, José L. 2018. Molecular docking: current advances and challenges. *TIP. Revista especializada en ciencias químico-biológicas*, **21**.
- Qu, Ren-Yu, He, Bo, Yang, Jing-Fang, Lin, Hong-Yan, Yang, Wen-Chao, Wu, Qiong-

- You, Li, Qing X, & Yang, Guang-Fu. 2021. Where are the new herbicides? *Pest Management Science*, **77**(6), 2620–2625.
- Quintana, Somaris E, Salas, Stephanie, & García-Zapateiro, Luis A. 2021. Bioactive compounds of mango (*Mangifera indica*): A review of extraction technologies and chemical constituents. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **101**(15), 6186–6192.
- Quintana-Obregón, Eber, San Martín-Hernández, César, Muy-Rangel, María, & Vargas-Ortiz, Manuel. 2019. Valorization of mango (*Mangifera indica* L.) pericarp powders as an alternative for the generation of functional foods. *TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, **22**(1), 1–5.
- Radhakrishnan, Ramalingam, Alqarawi, Abdulaziz A, & Abd\_Allah, Elsayed Fathi. 2018. Bioherbicides: Current knowledge on weed control mechanism. *Ecotoxicology and environmental safety*, **158**, 131–138.
- Ramírez, JA, & Lacasaña, Matias. 2001. Plaguicidas: clasificación, uso, toxicología y medición de la exposición. *Arch Prev Riesgos Labor*, **4**(2), 67–75.
- Ramírez, Lucía Constanza Corrales, Lozano, Liliana Caycedo, & Duarte, Stiven Quijano. 2022. Catalisis, enzimas y pruebas rápidas. *Nova*, **20**(39), 121–150.
- Rasheed, A, Cobham, EI, Zeighmami, M, & Ong, SP. 2012. Extraction of phenolic compounds from pineapple fruit. *Pages 18–19 of: Proceedings of the 2nd International Symposium on Processing & Drying of Foods, Fruits & Vegetables, Kuala Lumpur, Malaysia*.
- Rezaie, Mitra, Farhoosh, Reza, Iranshahi, Mehrdad, Sharif, Ali, & Golmohamadza-deh, Shiva. 2015. Ultrasonic-assisted extraction of antioxidative compounds from Bene (*Pistacia atlantica* subsp. *mutica*) hull using various solvents of different physicochemical properties. *Food chemistry*, **173**, 577–583.
- Ribeiro, Sonia Machado Rocha, & Schieber, Andreas. 2010. Bioactive compounds in mango (*Mangifera indica* L.). *Pages 507–523 of: Bioactive foods in promoting health*. Elsevier.
- Ribeiro, Thalita Passos, Lima, Maria Auxiliadora Coêlho de, Trindade, Danielly Cristina Gomes da, Lima, Francisco Pinheiro, & Ristow, Nara Cristina. 2015. Quality and bioactive compounds in fruit of foreign accessions of mango conserved in an Active Germplasm Bank1. *Revista Ciência Agronômica*, **46**(1), 117–125.
- Rivas-Robles, Emanuel, Posada-Toledo, Alejandra, Vela-Gutiérrez, Gilber, &

- Vargas-Ortiz, Manuel Alejandro. 2020. Evaluación fisicoquímica y determinación sensorial de frutos descartados de *Mangifera indica* L. variedad Ataulfo en Acapetahua, Chiapas, México. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, **21**(1).
- Robles, Enrique Rosales, & de la Cruz, Ricardo Sánchez. 2006. *Clasificación y uso de los herbicidas por su modo de acción*. SAGARPA.
- Rojas, Sonia, & Vibrans, Heike. 2004. *Catálogo de Malezas de México: familia Brassicaceae (cruciferae)*.
- Rojas-Garbanzo, Carolina, Winter, Julia, Montero, María Laura, Zimmermann, Benno F, & Schieber, Andreas. 2019. Characterization of phytochemicals in Costa Rican guava (*Psidium friedrichsthalianum*-Nied.) fruit and stability of main compounds during juice processing-(U) HPLC-DAD-ESI-TQD-MSn. *Journal of Food Composition and Analysis*, **75**, 26–42.
- Sagwan, Savita, Rao, DV, & Sharma, RA. 2010. Biochemical estimation of primary metabolites from *Pongamia pinnata* (L.): an important biodiesel plant. *Int J Pharma Sci Rev Res*, **5**(1), 146–149.
- Santos Cruz, Avimael. 2018. Evaluación del efecto herbicida de extractos vegetales sobre semillas de frijol *Phaseolus Vulgaris* L. y trigo *Triticum Aestivum* L. como plantas indicadoras.
- Sekhon-Loodu, Satvir, Warnakulasuriya, Sumudu N, Rupasinghe, HP Vasantha, & Shahidi, Fereidoon. 2013. Antioxidant ability of fractionated apple peel phenolics to inhibit fish oil oxidation. *Food chemistry*, **140**(1-2), 189–196.
- Serna Cock, Liliana, & Torres León, Cristian. 2015. Potencial agroindustrial de cáscaras de mango (*Mangifera indica*) variedades Keitt y Tommy Atkins. *Acta Agronómica*, **64**(2), 110–115.
- Soong, Yean-Yean, & Barlow, Philip J. 2004. Antioxidant activity and phenolic content of selected fruit seeds. *Food chemistry*, **88**(3), 411–417.
- Sun, Zhonghua, Li, Xiuwei, Wang, Kai, Zhao, Ping, Li, Jing, Wang, Weijing, Ahmed, Maqsood, Shafi, Jamil, Zhao, Bochui, Fu, Danni, *et al.* 2021. Molecular basis of cross-resistance to acetohydroxy acid synthase-inhibiting herbicides in *Sagittaria trifolia* L. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, **173**, 104795.
- Tiwari, Brijesh K. 2015. Ultrasound: A clean, green extraction technology. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, **71**, 100–109.
- Tudi, Muyaier, Daniel Ruan, Huada, Wang, Li, Lyu, Jia, Sadler, Ross, Connell,

- Des, Chu, Cordia, & Phung, Dung Tri. 2021. Agriculture development, pesticide application and its impact on the environment. *International journal of environmental research and public health*, **18**(3), 1112.
- Villa-Rodríguez, Jose A, Molina-Corral, F Javier, Ayala-Zavala, J Fernando, Olivas, Guadalupe I, & González-Aguilar, Gustavo A. 2011. Effect of maturity stage on the content of fatty acids and antioxidant activity of Hass avocado. *Food Research International*, **44**(5), 1231–1237.
- Wolansky, Marcelo Javier. 2011. Plaguicidas y salud humana.
- Wu, Yun-Peng, Wang, Yan, Li, Jia-Hui, Li, Ran-Hong, Wang, Jun, Li, Sui-Xin, Gao, Xin-Yu, Dong, Ling, & Li, An-Qi. 2021. Design, synthesis, herbicidal activity, in vivo enzyme activity evaluation and molecular docking study of acylthiourea derivatives as novel acetohydroxyacid synthase inhibitor. *Journal of Molecular Structure*, **1241**, 130627.
- Zeb, Alam, & Zeb. 2021. *Phenolic Antioxidants in Foods: Chemistry, Biochemistry and Analysis*. Springer.
- Zhou, Qingyan, Liu, Weiping, Zhang, Yongsong, & Liu, Kevin K. 2007. Action mechanisms of acetolactate synthase-inhibiting herbicides. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, **89**(2), 89–96.