



Universidad Autónoma de Sinaloa
Facultad de Ciencias de la Nutrición y Gastronomía
Maestría en Ciencias de la Nutrición y Alimentos Medicinales



**Efecto de derivados de mango Ataulfo (*Mangifera caesia* Jack
ex Wall) en la microbiota intestinal relacionada con la
obesidad en un modelo in vitro**

TESIS

Como requisito para obtener el grado de:

**MAESTRA EN CIENCIAS DE LA NUTRICIÓN Y
ALIMENTOS MEDICINALES**

Presenta

L.N. Kirenia Baldenebro Ojeda

Directoras

Dra. Marcela de Jesús Vergara Jiménez

Dra. Josefa Adriana Sañudo Barajas

Culiacán, Sinaloa, México

Junio de 2022

APROBACIÓN

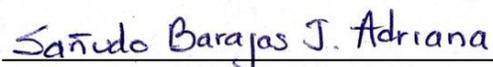
Efecto de derivados de mango Ataulfo (*Mangifera caesia* Jack ex Wall) en la microbiota intestinal relacionada con la obesidad en un modelo *in vitro*

Autor

L.N. Kirenia Baldenebro Ojeda



Dra. Marcela de Jesús Vergara
Jiménez
Directora de tesis



Dra. Josefa Adriana Sañudo Barajas
Directora de tesis



Dra. Mónica Lizzette Castro Acosta
Miembro del Comité de tesis



Dr. Cristóbal Chaidez Quiroz
Miembro del Comité de tesis



M.C. Irvin González López
Miembro del Comité de tesis



Dirección General de Bibliotecas



U n i v e r s i d a d A u t ó n o m a d e S i n a l o a

REPOSITORIO INSTITUCIONAL

UAS- Dirección General de Bibliotecas

Repositorio Institucional

Restricciones de uso

Todo el material contenido en la presente tesis está protegido por la Ley Federal de Derechos de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

Queda prohibido la reproducción parcial o total de esta tesis. El uso de imágenes, tablas, gráficas, texto y demás material que sea objeto de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente correctamente mencionando al o los autores del presente estudio empírico. Cualquier uso distinto, como el lucro, reproducción, edición o modificación sin autorización expresa de quienes gozan de la propiedad intelectual, será perseguido y sancionado por el Instituto Nacional de Derechos de Autor.

Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons Atribución-No Comercial-Compartir Igual, 4.0 Internacional.



DERECHOS DE AUTOR



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SINALOA

CARTA CESION DE DERECHOS

En la Ciudad de Culiacán, Sinaloa el día 04 del mes Mayo del año 2022, el (la) que suscribe C. Kirenia Baldenebro Ojeda alumno (a) del Programa de Maestría en Ciencias de la Nutrición y Alimentos Medicinales con número de cuenta 08018332, de la Facultad de Ciencias de la Nutrición y Gastronomía, manifiesta que es autor (a) intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección de Dra. Marcela de Jesús Vergara Jiménez y Dra. Josefa Adriana Sañudo Barajas y cede los derechos del trabajo titulado "Efecto de derivados de mango Ataulfo (*Mangifera caesia* Jack ex Wall) en la microbiota intestinal relacionada con la obesidad en un modelo in vitro", a la Universidad Autónoma de Sinaloa para su difusión, con fines académicos y de investigación por medios impresos y digitales.

La Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México) protege el contenido de la presente tesis. Los usuarios de la información contenida en ella deberán citar obligatoriamente la tesis como fuente, dónde la obtuvo y mencionar al autor intelectual. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.


Kirenia Baldenebro Ojeda

Nombre completo y firma

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a la Universidad Autónoma de Sinaloa, y a la Facultad de Ciencias de la Nutrición y Gastronomía por darme la oportunidad de llevar a cabo la Licenciatura en Nutrición y posteriormente ingresar al posgrado de Ciencias de la Nutrición y Alimentos Medicinales, para buscar formarme como Maestra en Ciencias. También agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el apoyo otorgado. También al personal administrativo detrás de la apertura y continuidad de este programa educativo, reconocido por el Padrón del Programa Nacional de Posgrados de Calidad. Su visión y dedicación son una noble labor en la formación personal y académica de muchas personas, como es mi caso.

También agradezco al Laboratorio Nacional para la Investigación en Inocuidad Alimentaria del CIAD Culiacán, por abrirme sus puertas y permitirme realizar mi estancia y toda la parte experimental de este trabajo, de igual manera agradezco a todas las personas que laboran en este centro de investigación que siempre tienen la mejor disposición a brindar su ayuda y conocimientos.

Agradezco a mis directoras de tesis, la Dra. Marcela de Jesús Vergara Jiménez, por confiar en mí para la realización de este proyecto, por su tiempo, por compartir sus conocimientos, y por inspirar con su ejemplo de disciplina y dedicación, el cariño a la ciencia. También agradezco profundamente a la Dra. Adriana Sañudo Barajas, por compartir sus conocimientos, por siempre tener la mejor disposición para atender las dudas y comentarios que surgieran, así como para hacer las correcciones necesarias, siempre de la mejor manera y con las mejores palabras. A ambas por ser una guía fundamental en la dirección de este trabajo muchas gracias.

A los miembros de mi comité por brindar su tiempo y sus conocimientos y ser una guía para sacar lo mejor de este proyecto, gracias Dra. Mónica Lizzette Castro Acosta, Dr. Cristóbal Chaidez Quiroz.

También quisiera agradecer al M.C. Irvin González López, por ser parte importante en la realización de este trabajo, por su infinita paciencia al contestar todas mis dudas, que sabe fueron muchas; por estar siempre dispuesto a ayudar en todo lo que estaba en su alcance y más, desde subir y bajar equipos, extender millones de placas, o ir a buscar borregos.

A la M.C. Rosabel Vélez, Rosabel, muchas gracias por ser un pilar y guía fundamental en este proyecto, por compartir sus conocimientos, por apoyarme al cien por ciento durante toda mi estancia en CIAD y más, por guiarme durante cada prueba en el laboratorio y enseñarme con infinita paciencia, aclarando todas las dudas, gracias por siempre estar presente y por su amistad.

Gracias a todos los chicos del laboratorio de microbiología del CIAD, que siempre muestran solidaridad, hacia sus compañeros, y que durante mi estancia no dudaron en brindarme su apoyo.

A mis compañeros de maestría, el estrés de las clases o de los exámenes fue más pasajero con ustedes, gracias por esos momentos. También quisiera agradecerle a Annet, por su amistad y apoyo fuera y dentro del laboratorio, por su compañía durante todos los viajes en carretera, por las veces que nos tocó madrugar, o ser las ultimas en salir y por los momentos de comprensión y compañía que nos tocó vivir juntas.

A mis amigas Dana, Perla y Karely por siempre estar, y por esos momentos en los que con sólo juntarnos a hablar y reírnos los problemas no parecen tan grandes.

Agradezco a mis padres por guiarme y apoyarme en todos los aspectos de mi vida. A mis hermanas Kendra y Kenia, por ser mi motivación, estar siempre

conmigo, y apoyarme en todo, aunque eso significara escucharme hablar mil veces de las mismas cosas, sé que a estas alturas conocen este proyecto tanto como yo.

RESUMEN

La obesidad es una condición donde el exceso de tejido adiposo afecta adversamente la salud y tiene su origen principalmente en la ingesta calórica excesiva, estilos de vida sedentarios, entre otras condicionantes y sus interacciones. En dichas interacciones, la disbiosis microbiótica intestinal se asocia a la disfunción de la barrera intestinal, lo que favorece el establecimiento de bacterias como *Enterobacter cloacae*, productora de endotoxinas y lipopolisacáridos con actividad proinflamatoria. El consumo de frutas ricas en fibra y compuestos bioactivos, promueve estados saludables y diversidad de la microbiota intestinal. El mango Ataulfo es una variedad mexicana con alto contenido de compuestos bioactivos y fibra dietaria; mismos que se distribuyen diferencialmente entre la pulpa y la cáscara. El procesamiento del mango genera volúmenes considerables de pulpa y cáscara, por lo tanto, en el presente estudio se explora el potencial de la cáscara y pulpa en la inhibición del crecimiento de *E. cloacae*, así como su capacidad metabólica para la utilización de fuentes de carbono. **Objetivo:** Analizar el efecto de derivados de mango Ataulfo (pulpa, cáscara y fibra aislada) sobre la microbiota asociada a obesidad en un modelo *in vitro* con *E. cloacae*. **Materiales y métodos:** Se analizó la composición química de los tres derivados de mango y fueron sometidos a un proceso de predigestión *in vitro*. Se realizaron pruebas de proliferación bacteriana con los materiales de mango predigeridos, con la cepa de *E. cloacae*, registrando su proliferación durante 30 horas. Además, se determinó la capacidad metabólica de *E. cloacae* para la utilización de diversas fuentes de carbono en microplacas preconfiguradas Biolog PM1 y PM2A, con la metodología Biolog. **Resultados:** La composición de los derivados de mango respecto a fibra total y azúcares libres, fue de 81 y 0.94 % en fibra aislada, 40.4 y 31.66 % en cáscara y 10.71 y 73.20 % en pulpa, respectivamente. Los resultados del Biolog, reportan que *E. cloacae* presenta una rápida utilización y crecimiento estable para la glucosa, así como una alta

utilización de pectina, arabinosa, galactosa y ácido galacturónico junto una baja utilización de ácidos orgánicos precursores de compuestos fenólicos. La proliferación de *E. cloacae* fue menor en los derivados de mango Ataulfo vs glucosa, que logró un crecimiento máximo de 1.333 Log UFC/ml, mientras que en los derivados de mango fue de 1.246 Log UFC/ml en cáscara, 0.789 Log UFC/ml en pulpa, y 0.068 Log UFC/ml en la fibra aislada; con una baja en su crecimiento posterior a 12 horas de exposición a estos. **Conclusión:** Se demostró que los productos derivados de mango Ataulfo presentaron un efecto inhibitorio sobre la proliferación de *E. cloacae* vs glucosa, con un descenso en su crecimiento observable después de 12 horas de exposición a los derivados. Destacando a la fibra aislada que presentó el menor incremento en comparación a los demás derivados de mango, debido posiblemente a su composición química, que sobresale por una mayor concentración de lignina y compuestos fenólicos, por lo que su consumo podría influir en la disminución de *E. cloacae* en la microbiota intestinal y con esto, aminorar la presencia de inflamación crónica de bajo grado y sus efectos en la promoción y prevalencia de la obesidad.

ÍNDICE DE CONTENIDO

CONTENIDO	Pág.
DERECHOS DE AUTOR	i
AGRADECIMIENTOS	ii
RESUMEN	v
ÍNDICE DE CONTENIDO	vii
LISTA DE FIGURAS	x
LISTA DE TABLAS	xi
ÍNDICE DE ANEXOS	xii
1. INTRODUCCIÓN	1
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	5
2.1 Obesidad, definición, etiología y prevalencia	5
2.2 Microbiota intestinal	6
2.2.1 Microbiota y su papel en la obesidad.....	8
2.2.2 Enterobacter cloacae (E. cloacae).....	11
2.3 Modulación de la microbiota intestinal	12
2.3.1 Efecto de la dieta en la composición de la microbiota intestinal	13
2.4 Metodología Biolog	17
2.5 Mango (Mangifera indica L.).....	18
2.4.1 Mango Ataulfo (Mangifera caesia Jack ex Wall)	19
3. OBJETIVOS	21
3.1 Objetivo General	21

3.2 Objetivos Específicos.....	21
4. MATERIALES Y MÉTODOS	22
4.1 Diseño del estudio.....	22
4.2 Primera etapa: Preparación y caracterización de los derivados de mango Ataulfo.....	24
4.2.1 Preparación de la pulpa, cáscara	24
4.2.2 Obtención de fibra aislada de cáscara.....	24
4.2.3 Análisis proximales de los tres derivados de mango Ataulfo.....	26
4.3 Segunda etapa: Predigestión <i>in vitro</i>	31
4.4 Tercera etapa: Proliferación de <i>Enterobacter Cloacae</i>	32
4.4.1 Activación de la cepa ATCC	32
4.4.2 Crecimiento de <i>Enterobacter cloacae</i> en presencia de derivados predigeridos de mango Ataulfo	33
4.4.3 Análisis de utilización de fuentes de carbono por <i>E. cloacae</i>	34
4.5 Análisis estadístico.....	35
5. RESULTADOS	36
5.1 Resultados de Análisis Proximales	36
5.1.1 Contenido de humedad, proteína, grasa y ceniza de la pulpa, cáscara y fibra aislada de mango Ataulfo	36
5.1.2 Contenido de fibra dietaria de pulpa, cáscara y fibra aislada de mango Ataulfo	38
5.1.3 Contenido de azúcares disponibles en la pulpa, cáscara y fibra aislada de mango Ataulfo	44

5.2 Crecimiento de <i>Enterobacter cloacae</i> en presencia de derivados de mango Ataulfo predigeridos	48
5.3 Análisis de utilización de fuentes de carbono con Biolog	53
6. DISCUSIÓN	60
7. CONCLUSIONES	68
8. RECOMENDACIONES	69
9. REFERENCIAS	70
ANEXOS	85

LISTA DE FIGURAS

Figura	Descripción	Página
Figura 1.	Esquema sobre las etapas desarrolladas en el proyecto.....	23
Figura 2.	Pulpa, cáscara y fibra aislada de la cáscara de mango Ataulfo. ..	25
Figura 3.	Cuadro sobre la preparación y medición de sacarosa, fructosa y glucosa.....	30
Figura 4.	Composición de fibra dietaria total en pulpa, cáscara y fibra aislada de mango Ataulfo (indicada como Fibra).	41
Figura 5.	Contenido de fibra soluble e insoluble en pulpa, cáscara y fibra aislada de mango Ataulfo.	43
Figura 6.	Contenido de azúcares disponibles en pulpa, cáscara y fibra aislada de mango Ataulfo.....	45
Figura 7.	Crecimiento diferencial de <i>E. cloacae</i> en cultivo <i>in vitro</i> enriquecido con glucosa vs pulpa, cáscara y fibra aislada de mango Ataulfo.	52
Figura 8.	Mapa de calor sobre la utilización de fuentes de carbono por <i>E. cloacae</i> , placa PM1.....	54
Figura 9.	Mapa de calor sobre la utilización de fuentes de carbono por <i>E. cloacae</i> , placa PM2A.	55
Figura 10.	Gráfica lineal y mapa de calor sobre la utilización de fuentes de carbono de interés por <i>Enterobacter cloacae</i>	57

LISTA DE TABLAS

Tabla	Descripción	Página
Tabla 1.	Composición química de pulpa, cáscara y fibra aislada de mango Ataulfo, expresado en porcentaje (%).....	37
Tabla 2.	Contenido de fibra dietaria soluble, insoluble y total de la pulpa, cáscara y fibra aislada de mango Ataulfo.	39
Tabla 3.	Contenido de azúcares disponibles en la pulpa, cáscara y fibra aislada de mango Ataulfo, expresado en porcentajes (%).....	47
Tabla 4.	Proliferación de <i>Enterobacter cloacae</i> en presencia de pulpa, cáscara y fibra aislada de mango Ataulfo y glucosa.	49

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo	Descripción	Página
Anexo 1.	Constancia de estancia académica en el Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A. C. Coordinación Culiacán.	85
Anexo 2.	Resumen “Fully Ripe “Ataulfo” Mango (<i>Mangifera indica L</i>) Peel, Pulp and Isolated Fiber: Sources of Bioactive Components Against Metabolic Syndrome” publicado en la revista Current Developments in Nutrition.	86
Anexo 3.	Certificado de participación en el “XIX Congreso Latinoamericano de Nutrición 2021” de la Sociedad Latinoamericana de Nutrición (SLAN) en modalidad e-póster del trabajo titulado: “Efecto de subproductos de mango Ataulfo (<i>Mangifera indica L</i>) sobre la proliferación de <i>Enterobacter cloace</i> in vitro”, derivado de esta investigación.....	87
Anexo 4.	Publicación del resumen titulado: “Efecto de subproductos de mango Ataulfo (<i>Mangifera indica L</i>) sobre la proliferación de <i>Enterobacter cloace</i> in vitro”, derivado de esta investigación en la revista Archivos Latinoamericanos de Nutrición (ALAN).	88

1. INTRODUCCIÓN

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS), la prevalencia de obesidad se ha triplicado en los últimos cuarenta años, con una tasa mundial cercana a los 650 millones de personas en el 2020 (OMS, 2020). El aumento en la incidencia de este padecimiento, es un problema de salud pública importante por los trastornos metabólicos asociados al aumento excesivo de peso, entre ellos la resistencia a la insulina, diabetes tipo 2, hipertensión, aterosclerosis, accidente cerebrovascular, enfermedad del hígado graso y cáncer. Estos trastornos metabólicos representan causas principales de muerte a nivel mundial (Engin, 2017).

La etiología de la obesidad suele ser el resultado de una interacción intrínseca entre variables tales como desbalances entre la ingesta alimenticia y el gasto energético, aspectos psicosociales, genéticos, económicos, culturales y hábitos dietéticos, así como el estilo de vida. Sin embargo, otra variable de más reciente atención y conocimiento, es la influencia de la microbiota intestinal en la aparición, desarrollo y alcances de la obesidad (Cuevas-Sierra *et al.*, 2019; Seganfredo *et al.*, 2017). La microbiota que coloniza el tracto gastrointestinal humano, es una compleja y multifuncional comunidad microbiana, cuya actividad, composición, población y diversidad se asocian a dicha enfermedad; se han documentado diferencias significativas entre grupos de estudio con y sin obesidad (Peters *et al.*, 2018). En individuos sanos, la composición de la microbiota es extremadamente diversa, y las bacterias benéficas superan en número a las potencialmente dañinas (Chávez-Carbajal *et al.*, 2019; Davis, 2018). Contrariamente, las personas que padecen obesidad parecen tener una diversidad reducida y menor abundancia de ciertos géneros bacterianos, condición conocida como disbiosis (Abenavoli *et al.*, 2019).

Diversos autores asocian el desarrollo de enfermedades derivadas de procesos de inflamación celular provocados por endotoxinas secretadas por

comunidades bacterianas (Cani *et al.*, 2007; Cani & Jordan, 2018; Massier *et al.*, 2021; Tilg *et al.*, 2020). De estas comunidades, destaca *Enterobacter cloacae* (*E. cloacae*), un habitante natural de la microbiota intestinal humana que posee endotoxinas y lipopolisacáridos (LPS) altamente proinflamatorios (Keskitalo *et al.*, 2018), los cuales durante un proceso de disbiosis aumentan en concentración desencadenando procesos inflamatorios sistémicos de bajo grado.

Por todo lo anterior, la microbiota intestinal es parte funcional y no prescindible del organismo humano que aporta funciones que contribuyen a la fisiopatología de la obesidad. Establecer las condiciones para generar y mantener su diversidad es un objetivo terapéutico asociado a la promoción de procesos fisiológicos saludables y la prevención de enfermedades, entre ellas la reducción del riesgo de obesidad, atopías inmunitarias, alteraciones metabólicas, trastornos inflamatorios y otras derivadas de la pérdida de homeostasis intestinal. En el adulto las bacterias intestinales se clasifican principalmente en los filos Bacteroidetes y Firmicutes, ya que conforman el 90 % de la microbiota intestinal; ésta se modifica con la edad, el consumo de fármacos, factores ambientales, de estilo de vida y patrones alimenticios. (Crovesy *et al.*, 2020; Fontané *et al.*, 2018).

La dieta es uno de los principales factores que condicionan los enterotipos de individuos con ecosistemas microbianos en estado de simbiosis funcional. El consumo y transformación de sustancias prebióticas se asocia con la producción de moléculas bioactivas que benefician a dichos ecosistemas microbianos; por tanto, influyen en mantener el equilibrio y las funciones del sistema digestivo e inmunitario. Los carbohidratos no digeribles se reconocen por su función directa o indirecta de modulación inmunitaria y regulación de la homeostasis intestinal (Bernal-Castro *et al.*, 2017; Hiel *et al.*, 2019). Dentro de los alimentos de origen vegetal, el consumo de frutas de alto contenido de fibra dietaria y compuestos bioactivos, se promueve como una excelente opción de bienestar integral (Dreher, 2018; Gibson *et al.*, 2017).

El mango (*Mangifera indica* L) es una de las frutas tropicales más consumidas en todo el mundo. México ocupa el sexto lugar en producción a nivel mundial y por su parte el estado de Sinaloa se ubica en el tercer lugar nacional con una participación del 14 % del volumen total (Maldonado-Astudillo *et al.*, 2016). Sus beneficios para la salud han sido ampliamente reconocidos, y atribuidos a su alto contenido de fibra y compuestos fenólicos. El mango Ataulfo es una de las variedades mexicanas más aceptadas en el mercado nacional e internacional por sus características sensoriales únicas. También conocido como mango Ataulfo del Soconusco, Chiapas (*Mangifera caesia* Jack *ex Wall*) según la NOM-188-SCFI-2021 a cargo del Consejo Regulador de la Calidad del Mango Ataulfo del Soconusco, Chiapas, A.C. (DOF, 2012), destaca por sus propiedades nutricionales, calidad, color y sabor. El contenido nutricional de esta variedad de mango es superior a otras especies cultivadas en nuestro país como Manila, Irwin y Criollo (Maldonado-Celis *et al.*, 2019).

Pese a sus reconocidos beneficios, el mango presenta grandes volúmenes no comercializables de fruta y subproductos derivados de su procesamiento, tales como la producción de concentrados, deshidratados, congelados y pulpa en almíbar, principalmente. Los subproductos del mango (cáscara, semilla y residuos de pulpa) llegan a representar entre el 35 y el 60 % del peso de la fruta fresca, cuya composición proximal está basada en carbohidratos (almidón y fibra dietaria), lípidos, proteínas, compuestos fenólicos, minerales y vitaminas (Maldonado-Astudillo *et al.*, 2016). Estos residuos se han estudiado por su potencial uso para la producción de ingredientes funcionales y su aprovechamiento integral (Leguizamón-Delgado *et al.*, 2019; Marçal *et al.*, 2021; Mayo-Mayo *et al.*, 2020; Shukri *et al.*, 2019; Torres-León *et al.*, 2021; Vicenssuto *et al.*, 2020; Zepeda-Ruiz *et al.*, 2020). Por lo tanto, la posibilidad de utilizar estos compuestos como aditivos o ingredientes activos es muy prometedora, y de gran interés para la industria alimentaria y el área de la salud, en el marco de un desarrollo sustentable.

En el presente trabajo se analizó la composición el efecto antiproliferativo de la pulpa, cáscara y fibra aislada de cáscara de mango Acahualtongo sobre el enteropatógeno *E. cloacae* en un modelo simulado *in vitro*.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 Obesidad, definición, etiología y prevalencia

La Organización Mundial de la Salud (OMS) define a la obesidad como una acumulación anormal o excesiva de tejido adiposo que puede ser perjudicial para la salud (OMS, 2020). La etiología de esta enfermedad es multifactorial e involucra variables tales como un desequilibrio entre la ingesta y el gasto energético, aspectos psicosociales, genéticos, económicos y los hábitos alimentarios; investigaciones recientes sugieren que una composición alterada y una escasa diversidad de la microbiota intestinal también influye de manera importante en el desarrollo de esta enfermedad (Chávez-Carbajal *et al.*, 2019; Del Chierico *et al.*, 2018; Fernandez-Navarro *et al.*, 2017; Rinninella *et al.*, 2019; Riva *et al.*, 2017)

La prevalencia de esta enfermedad a nivel mundial se incrementó sustancialmente en corto tiempo, según las estimaciones más recientes de la OMS alrededor de 1.900 millones de adultos padecen sobrepeso, de los cuales 650 millones se consideran afectados por la obesidad, por lo que la prevalencia mundial de esta enfermedad se ha visto triplicada en los últimos cuarenta años (OMS, 2020). En el caso de México, de acuerdo a la ENSANUT 2018, el 75.2 % de la población adulta presentan sobrepeso u obesidad, al igual que el 35.6 % de los niños, colocando a esta enfermedad como una pandemia a nivel mundial, y como una de las principales condicionantes de la salud de los mexicanos (ENSANUT, 2018). A esta problemática se suma el hecho de que el aumento de peso excesivo está asociado con el desarrollo de otras enfermedades y diversos trastornos metabólicos, principalmente resistencia a la insulina, diabetes tipo 2, hipertensión, aterosclerosis, accidente cerebrovascular, enfermedad del hígado graso no alcohólico y algunos tipos de cáncer (Delzenne *et al.*, 2011; Engin, 2017; Saltiel *et al.*, 2017; C. S. Yang *et al.*, 2018).

Dada la magnitud de esta enfermedad, la obesidad también impone un problema económico para quien la padece, sus familias y las dependencias de

salud de las diferentes naciones del mundo. Adicionalmente, esta condición impacta negativamente en el crecimiento económico de los países ya que se relaciona con ausentismo laboral, reducción de la productividad, incremento de la tasa de mortalidad y en casos extremos, discapacidad permanente (Anekwe *et al.*, 2020; Tremmel *et al.*, 2017). En México según datos de la Secretaria de Salud, el costo total por atención de la obesidad en 2017 ascendió a 240,000 millones de pesos, cantidad en aumento progresivo que se estima puede llegar a alcanzar los 272,000 millones para el año 2023 (OMENT, 2016).

2.2 Microbiota intestinal

La microbiota intestinal se define como el conjunto de microorganismos que habita el intestino. El tracto gastrointestinal (GI) de los seres humanos reúne más de 100 trillones de microorganismos, representando una biomasa de hasta 200 g de peso (esto en un individuo adulto de 70 kg) (Seganfredo *et al.*, 2017; Sender *et al.*, 2016). La microbiota se clasifica en más de 30 filos bacterianos, de los cuales 7 contienen la mayor cantidad de especies detectadas: Firmicutes, Bacteroidetes, Actinobacterias, Cianobacterias, Fusobacterias, Proteobacterias y Verrucomicrobia. De éstos, Firmicutes y Bacteroidetes son los grupos predominantes, representando alrededor del 90 % de la microbiota intestinal (Etxeberria *et al.*, 2016).

La diversidad y abundancia de la microbiota humana está influenciada desde el nacimiento por diversos factores, como la genética, el tipo de parto (natural o cesárea) o el tipo de dieta (lactancia, fórmula o mixta), pero este vasto ecosistema de microorganismos conserva un cierto grado de flexibilidad y puede ser modulado por la exposición a condiciones ambientales, como la exposición a antibióticos, el clima, la higiene y especialmente, la composición de la dieta (Kolodziejczyk *et al.* 2019; Rothschild *et al.*, 2018)

De manera general, derivado de la actividad bioquímica y fisiológica de la biota, se manifiesta una interacción con el metabolismo y salud del hospedero, ya que se favorecen procesos de extracción, síntesis, y absorción

de nutrimentos, vitaminas, minerales y metabolitos como son los ácidos grasos de cadena corta (AGCC), entre ellos propionato, acetato y butirato. Estos AGCC cumplen con múltiples funciones en el organismo; el butirato y el propionato se aprovechan como fuente de energía para las células epiteliales del colon, y exhiben propiedades antiinflamatorias al promover la diferenciación de las células T reguladoras y las células T productoras de IL10 (Etxeberria *et al.*, 2016; Rinninella *et al.*, 2019; Riva *et al.*, 2017). Los AGCC pueden afectar indirectamente la homeostasis de la glucosa al estimular la liberación del péptido 1 similar al glucagón (GLP-1) y el polipéptido inhibidor gástrico (GIP), mediante su unión a los receptores de estas incretinas. Estas hormonas promueven la secreción de insulina por parte de las células beta del páncreas en respuesta al consumo de nutrimentos, teniendo una importante acción reguladora de la glucemia ya que son responsables de alrededor del 50-70 % de los niveles de insulina postprandial (Gérard *et al.*, 2019; Ojo *et al.*, 2016).

El genoma de la comunidad de microorganismos (microbioma) que habitan el tracto gastrointestinal contiene al menos 100 veces más genes que el genoma humano (Gill *et al.*, 2006). Esta abundancia define la diversidad de funciones metabólicas de este ecosistema; entre ellas la transformación colónica de polisacáridos no digeribles o parcialmente digeribles por las enzimas digestivas humanas ya que el genoma humano expresa menos de 20 enzimas glicosidasas capaces de degradarlos (Ashaolu *et al.*, 2021; Cantarel *et al.*, 2012). Las glicosidasas humanas están limitadas a degradar una pequeña fracción de enlaces glucosídicos de carbohidratos como el almidón y ésta la realiza mediante la acción de amilasas (pancreática y salival), así como la sacarosa y lactosa por medio de sacarasa y lactasa (Guilmeau *et al.*, 2006). La degradación de heteropolisacáridos complejos no digeribles requiere de la acción coordinada de glicosidasas ausentes en el genoma humano, por lo cual son las enzimas del microbioma las que realizan esta acción como mecanismo

para el desensamble y posterior etapa fermentativa dentro del tracto gastrointestinal (Holscher, 2017).

En la hidrólisis de polisacáridos complejos a monosacáridos por la microbiota intestinal y la posterior fermentación de estos glúcidos hasta la producción de AGCC, se favorecen otras funciones metabólicas y antiinflamatorias como son la producción y absorción de la principal fuente energética de las células de la pared intestinal. Además, se cumplen otras funciones fisiológicas relacionadas con la motilidad intestinal y modulación del pH del colon, lo cual puede influir en el proceso de absorción de nutrientes (Den-Besten *et al.*, 2013; Krautkramer *et al.*, 2021).

Los colonizadores microbianos benéficos del intestino, al establecerse en la mucosa intestinal, generan un ecosistema inmunitario de efecto barrera contra la adhesión e invasión de bacterias enteropatógenas mediante mecanismos simbióticos con el hospedante y de competencia con bacterias patógenas. La inhibición por competencia incluye el consumo de nutrientes disponibles, la producción de bacteriocinas, modificación desfavorable del pH y la afectación de las vías de señalización celular. La microbiota intestinal también previene el establecimiento de bacterias patógenas al promover y mantener la integridad del epitelio intestinal (Kamada *et al.*, 2013; Rinninella *et al.*, 2019).

Por todo lo anterior podemos considerar las interacciones entre la microbiota intestinal y el hospedero como simbióticas, definiendo al ser humano y a los microorganismos que lo habitan como un “superorganismo”.

2.2.1 Microbiota y su papel en la obesidad

En individuos sanos, la composición de la microbiota es extremadamente diversa, y las cepas de bacterias benéficas superan en número a las potencialmente dañinas (Chávez-Carbajal *et al.*, 2019; Davis, 2018; Moreno-Indias *et al.*, 2016). La pérdida de dicha diversidad junto a desequilibrios entre las proporciones de especies bacterianas se denomina disbiosis intestinal (Guarner, 2016). Actualmente un creciente número

investigaciones reportan una fuerte asociación entre la presencia de disbiosis y el desarrollo de enfermedades como la obesidad y el síndrome metabólico (Chávez-Carbajal *et al.*, 2019; Davis, 2018; Kolodziejczyk *et al.*, 2019; Rinninella *et al.*, 2019; Turnbaugh *et al.*, 2009), lo que confirma una diferencia entre la composición y funcionalidad de la microbiota intestinal de personas sanas y enfermas, concepto que se conoce como “biota obesogénica” (Peters *et al.*, 2018). Este enterotipo se caracteriza por la disminución de la diversidad de la biota, el incremento en la proporción del filo de los Firmicutes sobre Bacteroidetes, y también por la presencia de bacterias asociadas a procesos inflamatorios, como es el caso de *E. cloacae* (Abenavoli *et al.*, 2019; Fei *et al.*, 2013). Estos hallazgos han sido confirmados en modelos animales (Fei *et al.*, 2013; Keskitalo *et al.*, 2018) y en humanos (Chávez-Carbajal *et al.*, 2019; Del Chierico *et al.*, 2018; Fernandez-Navarro *et al.*, 2017; Koliada *et al.*, 2017; Moreno-Indias *et al.*, 2016).

Otro punto importante que asocia a la microbiota con el desarrollo de obesidad, es el papel de los AGCC en el control de la liberación de hormonas de la saciedad como la leptina, el péptido YY (PYY) y el péptido 1 similar al glucagón (GLP-1) y la expresión del factor adiposo inducido por el ayuno (FIAF). FIAF, también conocido como proteína similar a la angiopoyetina 4, es un gen diana para las proteínas activadas por el receptor de peroxisoma (PPAR), es producido por las células epiteliales del intestino grueso y el hígado e inhibe la lipoproteína lipasa (LPL), asociada a la acumulación de grasa en los tejidos periféricos. Los AGCC, productos de la fermentación bacteriana, aumentan la expresión de FIAF, éste al inhibir la LPL estimula la oxidación, el metabolismo e hidrólisis de los ácidos grasos. Lo que resulta en un aumento de los niveles plasmáticos de triglicéridos, glicerol y colesterol y por lo tanto en la depleción de las reservas de tejido graso y la consecuente disminución del peso corporal. Este es un posible mecanismo mediante el cual la microbiota intestinal contribuye a la regulación de la lipogénesis del huésped y el

almacenamiento de grasa (Amabebe *et al.*, 2020; Bäckhed *et al.*, 2004; Ejtahed *et al.*, 2019; van de Wouw *et al.*, 2017).

Igualmente, se reporta el papel contribuyente de bacterias productoras de endotoxinas en la promoción de la obesidad y otros desórdenes metabólicos (Fei *et al.*, 2020; Fei & Zhao, 2013; Keskitalo *et al.*, 2018), esto asociado con la presencia de disbiosis y su relación con la disfunción de la barrera intestinal, lo que permite el paso a la circulación sistémica de estas endotoxinas y lipopolisacáridos (LPS) (Abenavoli *et al.*, 2019).

El LPS es un componente de la membrana externa de las bacterias gramnegativas capaz de inducir reacciones inflamatorias a través de su unión al receptor 4 tipo Toll (TLR4) (Fuke *et al.*, 2019). El ingreso del LPS a la circulación eventualmente conduce a un estado de inflamación sistémica conocido como endotoxemia metabólica, caracterizado por la producción de citocinas inflamatorias y mediadores como la proteína C reactiva (PCR) que en conjunto desencadenan un estado inflamatorio crónico de bajo grado en el huésped. Este estado, se relaciona con diversos trastornos metabólicos incluyendo a la obesidad (Du *et al.*, 2022; Geurts *et al.*, 2014). Por lo tanto, microorganismos intestinales poseedores de LPS, tienen el potencial de contribuir con el desarrollo de endotoxemia metabólica. En este sentido destacan las bacterias pertenecientes a la familia *Enterobacteriaceae*, que exhiben una actividad de endotoxina significativamente mayor que los LPS de otras bacterias intestinales más abundantes como por ejemplo los *Bacteroidetes*. Una de estas especies de *Enterobacteriaceae* que recientemente ha sido asociada al desarrollo de obesidad y de diferentes desórdenes metabólicos es *E. cloacae* (Keskitalo *et al.*, 2018).

Por todo lo anterior, la flora intestinal puede considerarse un factor que contribuye a la fisiopatología de la obesidad, al igual que a su prevención, por lo que su manipulación puede resultar en resultados terapéuticos en términos de control de peso, marcadores de síndrome metabólico y salud en general (Fei *et al.*, 2013; Rinninella *et al.*, 2019).

2.2.2 *Enterobacter cloacae* (*E. cloacae*)

Enterobacter cloacae pertenece al filo de las Proteobacterias, es una bacteria de la clase Gammaproteobacteria, del orden Enterobacteriales (Davin-Regli *et al.*, 2019). El género *Enterobacter* fue descrito por primera vez en la década de los 60's, incluye bacilos gramnegativos anaerobios facultativos, con un largo de 2 mm; son microorganismos móviles gracias a la presencia de flagelos peritricos y pertenecen a la familia *Enterobacteriaceae* (Hormaeche *et al.*, 1960). *Enterobacter aerogenes*, *E. hormaechei* y *E. cloacae* representan las especies más frecuentemente asociadas a infecciones clínicas, especialmente en personas inmunodeprimidas y hospitalizadas, debido a la adaptación de estas especies a los agentes antimicrobianos y sus efectos, siendo descritas como patógenos oportunistas. El género *Enterobacter* se distribuye en diversos hábitats ambientales y son comensales naturales de la microbiota intestinal de animales y seres humanos (Davin-Regli *et al.*, 2019; Silva *et al.*, 2018).

Como se mencionó anteriormente el LPS se considera una importante endotoxina, capaz de inducir en el huésped efectos inflamatorios y metabólicos asociados con la obesidad, cuando ingresa a la circulación (Keskitalo *et al.*, 2018). Una de estas especies de *Enterobacteriaceae* que poseen endotoxinas asociadas con la obesidad e inflamación es *E. cloacae*, esta relación se reportó por primera vez en el año 2013, cuando el grupo de investigación de Fei publicó el caso clínico de un paciente con obesidad grave, diabetes e hipertensión, que presentó una microbiota intestinal compuesta por más del 35 % del género *Enterobacter*, y que al aislarse se identificó como *E. cloacae*. Tras una intervención dietaria de 23 semanas, el voluntario perdió 53.4 kg, y la presencia de *E. cloacae* se redujo a niveles indetectables, al igual que los niveles sanguíneos de la proteína de unión al LPS y algunas interleucinas asociadas a la inflamación (Fei *et al.*, 2013).

Así mismo, en estudios posteriores la misma cepa bacteriana, aislada de este paciente, inició la obesidad y desencadenó inflamación al inocularse

en ratones libres de gérmenes (Keskitalo *et al.*, 2018; Yan *et al.*, 2016). Estudios recientes han evidenciado la presencia de *E. cloacae*, con mayor proporción en la microbiota de personas que padecen obesidad, en comparación con su contraparte de peso normal (Grigorova *et al.*, 2021) y en casos de intervención, la disminución de peso también fue acompañada de una disminución de esta especie microbiana (Fei *et al.*, 2020). Lo anterior sugiere una fuerte conexión entre *E. cloacae* y el desarrollo de obesidad y sus comorbilidades, posiblemente a través de un mecanismo mediado por la inflamación inducida por endotoxinas.

2.3 Modulación de la microbiota intestinal

La conformación de la microbiota humana está influenciada desde el nacimiento por diversos factores, como la genética, el tipo de parto al nacer o el tipo de dieta que lleva el recién nacido, ya sea leche materna o leche de fórmula; por ejemplo, se reconoce a la leche materna (un importante simbiótico) como fuente de compuestos prebióticos, principalmente los oligosacáridos de la leche materna (HMO), los cuales son metabolizados casi exclusivamente por la microbiota intestinal y promueven el crecimiento de microorganismos clave del género *Bifidobacterium* capaces de inhibir el crecimiento de otros organismos patógenos y de mejorar la función de la barrera en el intestino del lactante (Triantis *et al.*, 2018). Por su parte, las bacterias de la leche materna pueden proliferar en el intestino del bebé e influir en la composición de la microbiota, incluso en la edad adulta, donde la composición de la misma suele ser más estable. Aun así, este vasto ecosistema de microorganismos conserva un cierto grado de flexibilidad y puede ser modulado por diferentes factores ambientales como el uso de antibióticos, el clima, la higiene, el nivel de actividad física y especialmente, la composición de la dieta (Kolodziejczyk *et al.*, 2019; Quin *et al.*, 2020; Rothschild *et al.*, 2018).

2.3.1 Efecto de la dieta en la composición de la microbiota intestinal

Los cambios tecnológicos, demográficos y de estilo de vida, como la urbanización y el abandono de las zonas rurales, han marcado a las poblaciones actuales. La industrialización de la agricultura y ganadería nos han conducido a una verdadera revolución en la producción y disponibilidad de alimentos, representando un gran impacto en la transformación de los hábitos alimentarios (Moles *et al.*, 2020).

Los diferentes patrones de consumo de los macronutrientes (grasas, proteínas y carbohidratos) provocan cambios significativos en la microbiota intestinal humana (Kolodziejczyk *et al.*, 2019). Uno de estos patrones ampliamente adoptado por la sociedad moderna es la dieta occidental, caracterizada por un alto consumo de grasa, azúcar, carnes rojas, alimentos ultraprocesados, aditivos y conservadores, junto con una baja ingesta de alimentos frescos, granos enteros y fibra (Zinöcker *et al.*, 2018). Los efectos de mantener este estilo de alimentación están fuertemente relacionados con la presencia de inflamación sistémica, diabetes tipo 2, mayor riesgo a enfermedad cardiovascular, obesidad, síndrome metabólico y alteraciones en la composición de la microbiota intestinal (Dong *et al.*, 2019; Moles *et al.*, 2020).

La microbiota en los consumidores de dietas occidentales se caracteriza clásicamente por un incremento del filo de los Firmicutes y una disminución del de Bacteroidetes, mientras que, a nivel de género muestra una disminución en *Bifidobacterium* y *Lactobacillus*, junto a un incremento en *Enterobacter*. En consecuencia, la dieta occidental se ha relacionado con la presencia de endotoxemia en el huésped, debido a disminución de la función de barrera intestinal y el consecuente aumento de los niveles de LPS y diversos marcadores inflamatorios (Singh *et al.*, 2017; Usuda *et al.*, 2021).

Aunque existen diferentes patrones de alimentación entre los seres humanos en cuanto a la proporción y composición de proteínas, grasas,

carbohidratos y fibra, se ha encontrado que el microbioma intestinal también puede verse afectado por estos componentes de manera individual.

Se estima que aproximadamente 25 g de proteínas, péptidos y aminoácidos libres ingresan al colon cada día (Macfarlane *et al.*, 2019). Su digestión por parte de las bacterias del colon genera productos como AGCC, indoles, aminas, fenoles, tioles y sulfuro de hidrógeno, entre otros. Algunos de estos son esenciales para el mantenimiento de la salud, mientras que otros pueden llegar a ser perjudiciales, por lo que el impacto directo de las proteínas en la composición y la funcionalidad de la microbiota intestinal depende de la cantidad de proteína consumida, su calidad, el historial de procesamiento (que influye en la digestión, la presentación y la función general de las proteínas) y la fuente de las mismas (Mills *et al.*, 2019).

Por ejemplo, las dietas ricas en proteínas de origen vegetal aumentan *Bifidobacterium* y *Lactobacillus*, al tiempo que disminuyen las especies patógenas, como *Bacteroides fragilis* y *Clostridium perfringens*. Estos cambios se asocian con niveles más altos de AGCC (Dong *et al.*, 2019; Świątecka *et al.*, 2011). Mientras que, las dietas con un alto contenido de proteínas de origen animal se relacionan con mayor prevalencia de bacterias del género *Alistipes* (implicado en condiciones como la fibrosis hepática, cáncer colorrectal y enfermedades cardiovasculares) y con el desarrollo de inflamación intestinal. Además, derivados de la utilización de las proteínas de origen animal, por parte de las bacterias intestinales, se generan metabolitos tóxicos, como las aminas y sulfuros. Estos tienen la capacidad de dañar las células epiteliales que conforman la barrera intestinal (Parker *et al.*, 2020).

Por otro lado, al estudiar la relación del consumo de grasa con la microbiota intestinal se reporta que, en personas sanas, el 7 % de la grasa de la dieta escapa a la absorción de la parte superior del tracto gastrointestinal y llega al colon en forma de ácidos grasos libres. Las dietas ricas en grasas, específicamente grasas saturadas, se han relacionado con una reducción de la riqueza de la microbiota intestinal, permeabilidad intestinal, aumento de la

translocación de LPS, y la consecuente inflamación sistémica (Cândido *et al.*, 2018; Wolters *et al.*, 2019). En este sentido, estudios en animales describen una disminución de Bacteroidetes y un aumento de Firmicutes y Proteobacterias en ratones alimentados con una dieta alta en grasas, específicamente ácidos grasos saturados, lo que sugiere una relación entre la ingesta elevada de grasas con el desarrollo de disbiosis intestinal (Mujico *et al.*, 2013; Rinninella *et al.*, 2019; Zhang *et al.*, 2012).

En humanos los resultados suelen ser inconsistentes, debido a variables entre los estudios, como la duración de las intervenciones, o las técnicas utilizadas para estudiar al ecosistema intestinal, pero en general tenemos que los cambios en la microbiota dependen del tipo de ácidos grasos utilizados. Por ejemplo, la ingesta de omega 3 se asocia directamente con un aumento en la abundancia de *Lactobacillus*, bacterias promotoras de la integridad de la barrera intestinal, mientras que los ácidos grasos monoinsaturados y poliinsaturados omega 6 se relacionaron inversamente con un aumento de *Bifidobacterium*, un género conformado por especies probióticas (Malesza *et al.*, 2021; Simões *et al.*, 2013; Wolters *et al.*, 2019). Sin embargo, los mecanismos por los que los diferentes tipos de ácidos grasos modulan la microbiota intestinal aún no han sido elucidados por completo, y faltan más estudios al respecto, sobre todo en humanos (Coelho *et al.*, 2019).

Otro punto importante en la relación que existe entre la dieta y la microbiota es el destacado papel de los prebióticos; definidos como sustratos que son utilizados selectivamente por los microorganismos del hospedero y que cuentan con la capacidad de modificar la composición y/o actividad metabólica de la microbiota intestinal para conferir beneficios para la salud del hospedador (Gibson *et al.*, 2017); las fibras dietarias y otros carbohidratos no digeribles que llegan al colon son susceptibles a la fermentación por parte de las bacterias y por lo tanto tienen una importante influencia en este ambiente microbiano (Benítez-Páez *et al.*, 2016; Gibson *et al.*, 2017). Los mecanismos que contribuyen a estos efectos en la salud no solo se basan en un uso

selectivo de los carbohidratos sino en los compuestos metabólicos que se obtienen de ellos, como los AGCC (Baxter *et al.*, 2019), también la promoción de la integridad de la barrera intestinal y capa mucosa (Camilleri *et al.*, 2019), o cambios fisiológicos en el intestino como la disminución de los niveles de pH (Jefferson *et al.*, 2019; Makki *et al.*, 2018).

Las fibras dietarias pueden clasificarse según su fermentabilidad en el colon o su solubilidad (soluble o insoluble) en agua. Entre las fermentables como son la inulina, pectina, beta-glucano, fructooligosacáridos (FOS) y galactooligosacáridos (GOS), se consideran solubles en agua por naturaleza; mientras que, las no fermentables como son la celulosa, hemicelulosa, lignina y almidón resistente, se consideran insolubles en agua (Rinninella *et al.*, 2019).

Aunque diversas organizaciones han propuesto dejar de utilizar esta clasificación, es útil como predictor de su capacidad de retención de agua, viscosidad y grado de fermentación por parte de las bacterias del tracto gastrointestinal. Las fibras insolubles como la celulosa que se encuentran en el salvado, legumbres y nueces generalmente no son fermentadas por la microbiota intestinal, pero aumentan la tasa de tránsito intestinal y reducen la cantidad de tiempo disponible para la fermentación bacteriana de alimentos no digeridos. Por otro lado, las fibras solubles como la pectina y los xiloglucanos son altamente fermentables y se pueden encontrar en cereales integrales y frutas. La inulina, las maltodextrinas resistentes o el almidón resistente son otros ejemplos de fibra dietaria soluble que se fermentan fácilmente por la microbiota intestinal. Así diversos autores coinciden en que una dieta alta en fibra aumenta la abundancia de *Bifidobacterium* y reduce la proporción de Firmicutes / Bacteroidetes en humanos y animales de experimentación (Berding *et al.*, 2021; So *et al.*, 2018; Swanson *et al.*, 2020; Wang *et al.*, 2016; Yang *et al.*, 2020).

Las frutas y los subproductos que derivan de su consumo, como cáscaras y semillas, representan una fuente natural de prebióticos debido a su alto contenido de carbohidratos no digeribles, polifenoles y compuestos

bioactivos, que nutren directamente la flora intestinal con grandes beneficios para el hospedero (Hernández-Maldonado *et al.*, 2019; Jovanovic-Malinovska *et al.*, 2014; Khangwal *et al.*, 2019; Pacheco-Ordaz *et al.*, 2018; Sáyago-Ayerdi *et al.*, 2019; Vicenssuto *et al.*, 2020; Zhang *et al.*, 2018).

Las pruebas *in vivo* son los mejores modelos para investigar la efectividad de las intervenciones en la microbiota intestinal, pero requieren de largos periodos de tiempo, representan costos elevados y están sujetos a cuestiones éticas. Por otro lado, los ensayos *in vitro* son útiles al poder simular la digestión y utilización de componentes dietéticos en el tracto gastrointestinal, a un menor costo, de manera rápida, lo que permite el cribado de múltiples cepas bacterianas o una gran cantidad de sustratos de forma simultánea en un ambiente controlado. Este es el caso de Biolog (BiOLOG Eco, EE. UU.), un sistema para evaluar la diversidad funcional de microorganismos, basado en el uso de fuentes de carbono, lo que permite conocer el perfil metabólico de cepas de interés (Wang *et al.*, 2020). El conocimiento fenotípico más detallado de un microorganismo es de suma importancia, ya que da pauta para establecer diferentes tratamientos o dosis de forma más específica.

2.4 Metodología Biolog

Las placas Biolog se comenzaron a comercializar en los años 80 como un método rápido de identificación y caracterización de bacterias de interés humano y clínico, basado en la respiración celular (Bochner, 1989). Este sistema utiliza placas de 96 pocillos y cada pocillo prueba un sustrato separado: 95 fuentes de carbono y un control en un medio de cultivo deshidratado que incluye una sal de tetrazolio que funciona como indicador de respiración celular. Las placas son inoculadas con suspensiones de bacterias aisladas en cultivo puro. El método detecta si los microorganismos son capaces de oxidar las diferentes fuentes de carbón mediante una transferencia de electrones de la cadena de transporte electrónico respiratorio a la sal de tetrazolio del medio, produciéndose un cambio de color que se mide en

términos de absorbancia. La reducción del tinte de tetrazolio (incoloro) a formazán (violeta) se registra durante intervalos de 15 minutos mediante una cámara acoplada en el equipo, obteniéndose como resultado una curva de evolución temporal del cambio colorimétrico equivalente a la tasa de respiración, un indicador de utilización por parte de las células (Baraza-Ruiz *et al.*, 2019; González-López *et al.*, 2021).

Actualmente los resultados del método Biolog describen la huella metabólica de cada microorganismo lo que permite su identificación y caracterización a partir de muestras ambientales, y también de cepas individuales de interés, siendo capaz de evaluar miles de rasgos fenotípicos simultáneamente convirtiéndose en una poderosa herramienta analítica para determinar la capacidad de catabolismo de carbono de microorganismos durante su proceso de crecimiento celular *in vitro* (Koner *et al.*, 2021).

Por lo anterior, para comprender en su totalidad el efecto de las intervenciones en este ecosistema, es necesario complementar los hallazgos que brindan los estudios en humanos y animales con la información obtenida de modelos *in vitro* (McDonald, 2017; Papadimitriou *et al.*, 2015; Sáyago-Ayerdi *et al.*, 2019).

2.5 Mango (*Mangifera indica* L.)

El mango es una de las frutas tropicales más populares en todo el mundo, y una de las más consumidas por los mexicanos con un consumo anual per cápita de 13 kg. Su producción mundial se estima en más de 46 millones de toneladas anuales, la India es el principal país productor (18 millones de toneladas) seguido por Indonesia, Tailandia, China y México. Nuestro país ocupa el quinto lugar con una producción de 1,867,298 toneladas. Por su parte el estado de Sinaloa se ubica en el cuarto lugar nacional con una participación del 10 % del volumen total de producción anual (SIAP, 2020).

Cada variedad de mango difiere en tamaño, forma, color, textura y sabor, y en general es descrito como un fruto carnoso, de forma oval, con

sabor dulce, de color verdoso, amarillento o rojizo, y que incluye un hueso grande y plano, rodeado de una cobertura leñosa. El valor energético de 100 g de pulpa de mango oscila entre 60 y 190 kilocalorías; esta constituye alrededor del 40-65 % del peso total de la fruta, dependiendo de la variedad, mientras que la parte restante corresponden a la cáscara y a la semilla que generalmente son descartadas o consideradas como subproductos de mango (Burton-Freeman *et al.*, 2017).

Esta fruta es una fuente importante de macronutrientes, principalmente carbohidratos y en menor medida ácidos grasos, proteínas, y aminoácidos libres. Además, el mango es fuente importante de fibra, vitaminas y minerales, así como también de compuestos fenólicos, flavonoides y otros polifenoles, carotenoides y compuestos volátiles (Maldonado-Astudillo *et al.*, 2016; Maldonado-Celis *et al.*, 2019) lo que confiere importantes efectos benéficos a esta fruta. Ensayos clínicos en humanos han reportado la asociación entre la suplementación con mango y las mejoras en diferentes aspectos metabólicos de individuos sanos al disminuir los niveles de triglicéridos (Robles-Sánchez *et al.*, 2011) y glucosa en sangre (Elizondo-Montemayor *et al.*, 2015); y de igual manera este efecto en la glucemia también ha sido observado en sujetos que padecen obesidad (Evans *et al.*, 2014) y en individuos con diagnóstico previos de diabetes mellitus tipo 2 (Burton-Freeman *et al.*, 2017; Roongpisuthipong *et al.*, 1991).

2.4.1 Mango Ataulfo (*Mangifera caesia* Jack ex Wall)

El mango Ataulfo definido como *Mangifera caesia* Jack ex Wall según la NOM-188-scfi-2012, es una de las variedades mexicanas más aceptadas y de más alta demanda en el mercado internacional. Es originario del Soconusco, una región costera en el estado de Chiapas, su nombre proviene de Don Ataulfo Morales Gordillo, propietario del lugar donde se encontró por primera vez este cultivar en el año 1963 (Hernández-Maldonado *et al.*, 2019).

Sus características sensoriales únicas como su pulpa dulce, baja en acidez, consistencia firme e intenso aroma destacan a esta variedad, motivo

por el cual, desde el 27 de agosto de 2003, se le otorgó la protección de denominación de origen. Bajo esta modalidad de protección, se asume que la calidad y características del mango Ataulfo se deben, fundamental y exclusivamente al medio geográfico en el que se produce (IMPI, 2003).

También es importante destacar el alto contenido de fibra del mango Ataulfo; su cáscara y pulpa reportan el 40 % y el 14 % de la fibra dietaria total, respectivamente (García-Magaña *et al.*, 2013; Hernández-Maldonado *et al.*, 2019). Además, la variedad Ataulfo contiene niveles más altos de compuestos fenólicos, que otras variedades de mango, así lo reportan Manthey y Perkins-Veazie, que analizaron el contenido de compuestos fenólicos de 5 variedades (Tommy Atkins, Kent, Keitt, Haden y Ataulfo) encontrando que las variedades Tommy Atkins, Kent, Keitt y Haden tenían contenidos fenólicos totales similares, con un promedio de 31.2 ± 7.8 mg de GAE / 100 g de pulpa, mientras que Ataulfo reportó un contenido sustancialmente más alto: 109.3 ± 14.8 mg de GAE / 100 g de pulpa. Resultados similares se obtuvieron al medir los niveles de vitamina C, donde la variedad Ataulfo presentó valores de más 125 mg/100 g de pulpa mientras que las demás variedades contienen menos de 31 mg/100 g de pulpa (Manthey *et al.*, 2009).

A estas características en su composición química se atribuyen efectos positivos en marcadores metabólicos, como una disminución de la glucemia, y de los niveles de citoquinas pro inflamatorias de voluntarios que padecían obesidad (Fang *et al.*, 2018). De igual manera se ha estudiado el efecto prebiótico de derivados del mango Ataulfo, encontrando beneficios sobre la proliferación de especies de los géneros *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* (Pacheco-Ordaz *et al.*, 2018; Sáyago-Ayerdi *et al.*, 2019).

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo General

Determinar el efecto de pulpa, cáscara y fibra aislada de cáscara de mango Ataulfo en la microbiota intestinal relacionada con la obesidad en un modelo *in vitro* de *Enterobacter cloacae*.

3.2 Objetivos Específicos

1. Caracterizar la composición proximal y perfil de carbohidratos de la pulpa, cáscara y fibra dietaria aislada de mango Ataulfo en madurez de consumo.
2. Diferenciar la capacidad de crecimiento de *Enterobacter cloacae* en pulpa, cáscara y fibra aislada de mango Ataulfo con predigestión simulada.
3. Evaluar el perfil metabólico de *Enterobacter cloacae* mediante el uso diferencial de fuentes de carbono.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Diseño del estudio

Éste estudio se realizó en tres etapas (**Figura 1**):

En la primera etapa se llevó a cabo la obtención de los frutos de mango, para posteriormente obtener la pulpa, cáscara y fibra aislada de cáscara, y una vez listos proceder a realizar análisis proximales para conocer su composición química.

La segunda etapa consistió en someter los 3 productos derivados de mango Ataulfo a un proceso de predigestión *in vitro*, con la finalidad de asemejar lo más posible, la forma en la que estos llegan al colon.

En la tercera etapa se realizó el análisis sobre el crecimiento de *E. cloacae* en presencia de la pulpa, cáscara y fibra aislada previamente predigeridas, durante 30 horas. De igual manera, en esta etapa se sometió a *E. cloacae* a una caracterización metabólica en relación al consumo de diferentes fuentes de carbono, utilizando el método Biolog.

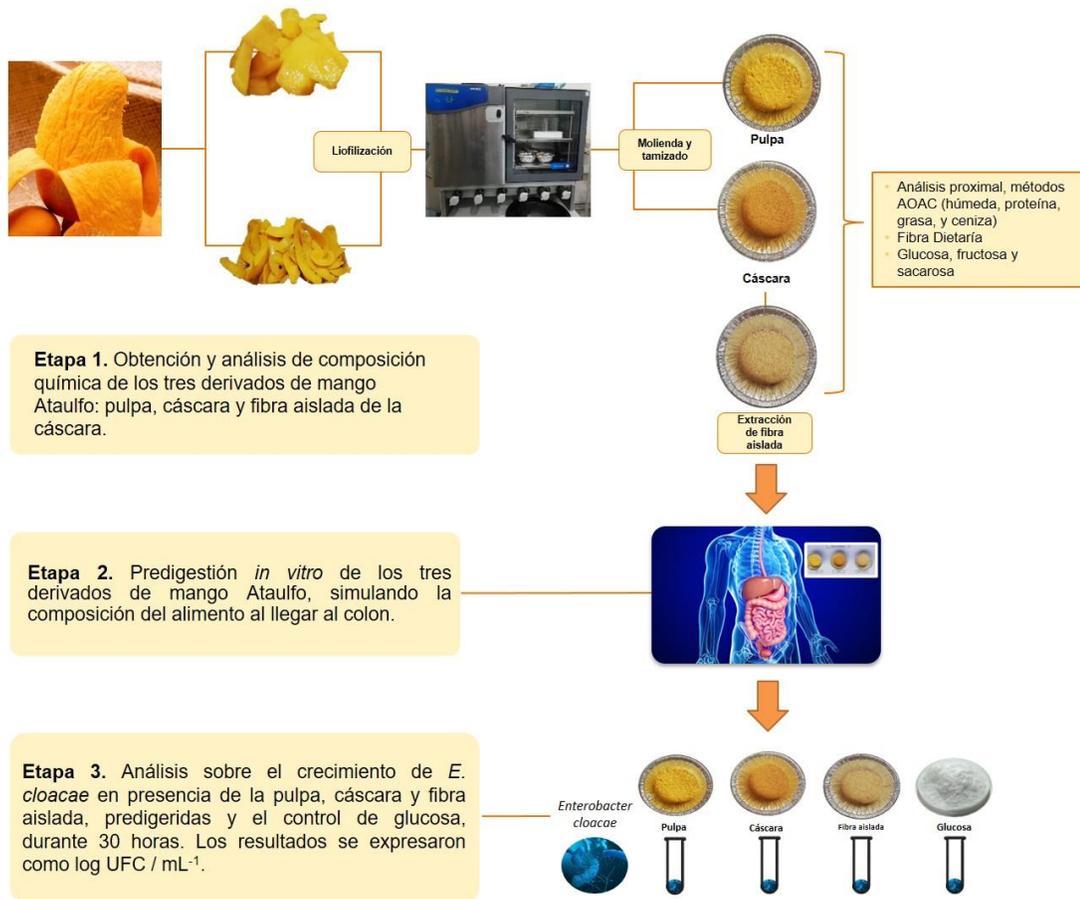


Figura 1. Esquema sobre las etapas desarrolladas en el proyecto.

4.2 Primera etapa: Preparación y caracterización de los derivados de mango Ataulfo

4.2.1 Preparación de la pulpa, cáscara

Mangos de la variedad Ataulfo, en estado de maduración para su consumo fueron adquiridos en el mercado local de la ciudad de Culiacán, Sinaloa, y llevados al laboratorio. Los mangos fueron lavados, y se separó manualmente la pulpa y la cáscara, posteriormente ambos fueron liofilizados utilizando un equipo de liofilización (Labconco™ Freezone, Kansas City, MO, EE. UU.) durante 48 horas.

La pulpa y cáscara ya liofilizadas fueron molidas con la ayuda de un mortero y tamizadas para unificar el tamaño de partícula (No. 40, Fisher Scientific Company, EE. UU.).

4.2.2 Obtención de fibra aislada de cáscara

Una vez que la cáscara de mango Ataulfo fue liofilizada, molida y tamizada, esta fue sometida a lavados con etanol para eliminar azúcares libres, pigmentos, y demás compuestos fenólicos, con la finalidad de obtener únicamente la fibra presente en la cáscara.

Para lograr esto, se pesaron 60 g de cáscara liofilizada, molida y tamizada, y se agregaron 300 ml de etanol al 80 %, la mezcla fue sonicada a 60°C durante 15 minutos. Posteriormente la mezcla se homogenizó utilizando un homogeneizador básico Ultra Turrax®T25 (IKA Works, Wilmington, NC). Después se filtró el preparado y se repitió este proceso 3 veces. El resultado fue la fibra aislada, de color más claro, casi blanco, la cual se dejó secar toda la noche.

Los tres productos derivados del mango Ataulfo ya procesados se presentan en la **Figura 2**.



**Pulpa de mango
Ataulfo**



**Cáscara de mango
Ataulfo**



**Fibra aislada de
cáscara de mango
Ataulfo**

Figura 2. Pulpa, cáscara y fibra aislada de la cáscara de mango Ataulfo.

4.2.3 Análisis proximales de los tres derivados de mango Ataulfo

4.2.2.1 Contenido de humedad

El contenido de humedad se calculó siguiendo el método 920.39 AOAC 1998. Se considera humedad de los alimentos a la pérdida de peso que se presenta cuando se expone al alimento a una alta temperatura (cercana al punto de ebullición del agua) durante un tiempo determinado. El residuo que se obtiene tras esta exposición al calor se conoce como sólidos totales. Para determinar la humedad de los tres derivados de mango se pesaron cerca de 2 g de cada uno en un platillo de aluminio previamente tarado y se secaron en la estufa a 90°C. Posteriormente, los platillos fueron transferidos a un desecador hasta alcanzar la temperatura ambiente. Se pesaron de nuevo y se calculó la pérdida de peso como humedad.

4.2.2.2 Contenido de proteína total

Se obtuvo el contenido de proteína total siguiendo el método 988.05 AOAC 1998 (método Kjeldahl). En este método el nitrógeno presente en la muestra es digerido con una mezcla de ácido sulfúrico en presencia de catalizadores (sales de cobre o mercurio) y convertido en sulfato de amonio. El residuo de esta digestión se enfría, se diluye con agua destilada y se agrega hidróxido de sodio. El amonio presente en las muestras se desprende y al mismo tiempo es destilado y recuperado en una solución de ácido bórico, posteriormente se valora con ácido clorhídrico (HCL) a 0.1 N. Se colocó 0.2 g de muestra en los tubos digestores, se adicionó 1.5 g de la mezcla catalizadora más 5 ml de ácido sulfúrico. Las muestras se digirieron hasta que se alcanzó un color verde claro y se dejó enfriar. A continuación, se llevó a cabo su destilación. Recibiendo el destilado en 50 mL de una solución de ácido bórico al 4 % hasta recolectar aproximadamente 150 mL. Finalmente se tituló el destilado con una solución valorada de HCl 0.1 N. El porcentaje de proteína total se calculó con la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Nitrógeno} = \frac{H * N * 0.01401 * 100}{g \text{ de muestra}}$$

$$\% \text{ Proteína} = \frac{H * N * 0.01401 * Fc * 100}{g \text{ de muestra}}$$

Donde:

H= mililitros gastados de HCl

N= Normalidad de HCl

Fc= Factor de corrección dependiendo de la muestra que se esté analizando.

4.2.2.3 Determinación de cenizas

El porcentaje de cenizas se determinó de acuerdo al método oficial de prueba AOAC (1998). Los crisoles fueron colocados en la mufla a 550 °C durante 1 hora, dejándose enfriar para registrar su peso en una balanza analítica. Se agregaron 2 g de muestra en los crisoles y se colocaron en la mufla a 550-600 °C durante 8 horas. Los crisoles se colocaron en un desecador para que alcancen la temperatura ambiente, se registró su peso y se determinó el porcentaje de cenizas por diferencia de peso.

4.2.2.4 Determinación de grasa (extracto etéreo)

Se pesaron 2 g de cada una de las muestras secas sobre papel filtro y se depositaron dentro de cartuchos de celulosa, mismos que se taparon con algodón; todo este material se trabajó a peso constante (AOAC, 920.39). Se empleó el equipo Soxhlet y éter de petróleo como solvente para extraer el contenido graso de las muestras. Se verificó ausencia residuos de grasa en las muestras tratadas, al dejar caer una gota del solvente sifonado sobre un trozo de papel filtro y esperar a que se evaporara el solvente; los cartuchos se secaron en una estufa a 60° C y enfriaron en un desecador. Finalmente, se determinó el contenido de extracto etéreo por diferencia de peso en el cartucho completo (muestra de mango, papel de filtro, cartucho y el algodón).

4.2.2.5 Determinación del contenido de fibra dietaria

Se realizó mediante el procedimiento enzimático-gravimétrico oficial de la AOAC (991.43) utilizando enzimas de la marca Megazyme®. Para ello, los

tres materiales de mango se sometieron a la acción de la enzima α -amilasa termoestable (150U) tomando una consistencia gelatinosa. Posterior a la gelatinización, la muestra se incubó a condiciones controladas con las enzimas proteasa (35U tirosina) y amiloglucosidasa (660 U) para digerir la proteína y dextrinas, resultando al final una solución que contiene el material no digerible. Para la obtención del porcentaje de fibra dietaria insoluble (FDI) se filtró dicha solución y el residuo se lavó con 10 mL de agua destilada caliente, posteriormente se hicieron dos lavados sucesivos con 10 mL de etanol al 80 % y dos lavados más con etanol al 96 % y con 10 mL de acetona. Finalmente, el residuo se secó en una estufa a 60 °C durante toda la noche y se registró el peso del residuo. A partir de la solución remanente se obtuvo la fibra dietaria soluble (FDS) mediante un proceso de precipitación con 4 volúmenes de etanol al 96 % (250 mL). El material precipitado se filtró, se lavó y secó de manera similar al residuo de FDI. Para calcular los porcentajes de ambos tipos de fibras el peso de los residuos se corrigió restando el contenido de proteína y de ceniza presente en los residuos. El porcentaje de Fibra dietaria total se calculó mediante la suma de los porcentajes de FDI y FDS.

4.2.2.6 Determinación de azúcares (sacarosa, fructosa y glucosa)

Se cuantificó mediante el kit enzimático de Megazyme®: Sacarosa, D-fructosa y D-glucosa. La concentración de D-glucosa se determinó antes y después de la hidrólisis de sacarosa por la enzima β -fructosidasa (invertasa). El contenido de sacarosa se calcula por diferencia en las concentraciones de D-glucosa antes y después de la acción de la β -fructosidasa.

La medición de D-glucosa se lleva a cabo por la acción de la enzima hexokinasa (HK), que cataliza la fosforilación de la D-glucosa por adenosina-5'-trifosfato (ATP) a glucosa-6-fosfato (G-6-P). Posteriormente la enzima G-6P deshidrogenasa participa en la oxidación de la molécula de G-6-P por NADP⁺ (fosfato de nicotinamida-adenina dinucleotido), con la formación en simultaneo de NADPH. La cantidad de NADPH es proporcional a la cantidad de D-

glucosa, y este puede ser medido por el incremento en la absorbancia a 340 nm.

El contenido de D-fructosa de la muestra se determinó después de la determinación de D-glucosa, después de la isomerización por fosfoglucoisomerasa (PGI).

Los volúmenes, mezclas utilizados, tiempos de incubación y medición de absorbancia se resumen en el siguiente cuadro, **Figura 3**.

Los resultados se expresaron como porcentaje de glucosa, fructosa y sacarosa, la suma de estos tres monosacáridos se consideró como el total de azúcares disponibles.

El contenido de carbohidratos totales se calculó por diferencia tomando el total de sólidos totales como el 100 % y se restó el contenido de proteína, extracto etéreo y cenizas.

	mL	Invertasa (mL)		Agua (mL)	Imidazol (mL)	NADP ¹ +ATP ² (mL)		HK ³ / G6P-DH ⁴ (mL)		PGI ⁵ (mL)		
Muestra Sacarosa	0.1	0.2	INCUBAR 10	2.4	0.1	0.1	INCUBAR 5	0.02	INCUBAR 10	-	INCUBAR 10	
Blanco Sacarosa	0.1 Agua	0.2		2.4	0.1	0.1		0.02		-		
Muestra Glucosa-Fruktosa	0.1	-		2.6	0.1	0.1		0.02		0.02		Hasta ABS ⁶ constante
Blanco Glucosa-Fruktosa	0.1 Agua	-		2.6	0.1	0.1		0.02		0.02		
Temperatura de incubación 25°C							MEDIR ABS 1		MEDIR ABS 2		MEDIR ABS 3	
							340 nm ⁷		340 nm		340 nm	

Figura 3. Cuadro sobre la preparación y medición de sacarosa, fructosa y glucosa.

¹NADP⁺: fosfato de nicotinamida-adenina dinucleotido, ²ATP: adenosina-5'-trifosfato, ³HK: hexoquinasa, ⁴G6P: glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, ⁵ PGI: fosfoglucosa isomerasa, ⁶ABS: absorbancia, ⁷nm: nanómetros. Fuente: Megazyme. Sucrose, D-fructose y D-glucose. Assay procedure (KSFRG 03/11).

4.3 Segunda etapa: Predigestión *in vitro*

Con el fin de simular las condiciones en las que la pulpa, cáscara y fibra aislada llegarían al colon, los tres productos de mango Ataulfo fueron sometidos a un proceso de predigestión *in vitro* como fue descrito previamente por Quirós-Sauceda et al., 2019. Para representar las condiciones gástricas las muestras liofilizadas (600 mg) se disolvieron en 20 mL de una solución de HCl-KCl (pH 1,5) y se agregaron 400 μ L de una solución de pepsina. A continuación, las muestras se incubaron durante 1 hora en un baño de agua a 40° C, con agitación constante. Después de la incubación, se añadieron 9 ml de tampón fosfato (PBS) y se ajustó el pH a 7.5. Para iniciar la fase intestinal, se agregaron 2 mL de pancreatina (5 mg / mL) y la mezcla se incubó a 37° C durante 6 horas. Posteriormente, las muestras digeridas se centrifugaron y los sobrenadantes se separaron y se transfirieron a bolsas de diálisis de celulosa semipermeables (12-14 kDa, Sigma Aldrich), se sellaron con clips, se sumergieron en agua destilada y se dializaron durante 36 horas, con el fin de simular la absorción por difusión pasiva. Posteriormente se mezcló el contenido de las bolsas de diálisis con las fracciones de precipitado, representando el material no digerible que llega al colon.

4.4 Tercera etapa: Proliferación de *Enterobacter Cloacae*

4.4.1 Activación de la cepa ATCC

La cepa ATCC 13047 de *E. cloacae* se adquirió de la ATCC. La reactivación bacteriana se realizó siguiendo las instrucciones del fabricante (*Enterobacter cloacae* subsp. *Cloacae* ATCC® 13047™). Una vez reactivada, se seleccionó una colonia de *E. cloacae* y se cultivó en 50 mL de Caldo Soya Trypticaseína (TSB; BD Bioxon, México) en un baño de agitación, a 37° C durante 3 h en condiciones aeróbicas (Shell-lab, EE. UU.) hasta obtener una concentración de 1×10^8 UFC / mL. Posteriormente, se prepararon alícuotas de 100 µL del cultivo bacteriano y se purificaron con lavados de solución PBS por centrifugación a 10,000 xg durante 10 min, y se resuspendieron en PBS para eliminar los residuos del medio de cultivo. Una vez que las alícuotas fueron purificadas, se utilizaron para determinar la proliferación de *E. cloacae* con los productos derivados de mango Ataulfo como fuentes de nutrientes.

4.4.2 Crecimiento de *Enterobacter cloacae* en presencia de derivados predigeridos de mango Ataulfo

La proliferación de *E. cloacae* en los derivados del mango se realizó siguiendo la metodología adaptada de Díaz-Vela *et al.* (2013) y Andrade *et al.* (2020), como se menciona a continuación: los diferentes productos del mango predigeridos (pulpa, cáscara y fibra aislada) se utilizaron como fuente de nutrimentos para evaluar su efecto sobre el crecimiento de esta bacteria. Para ello, los medios de cultivo se formularon en tubos utilizando cada subproducto predigerido a una concentración del 1 %, así como un control positivo de glucosa a la misma concentración. Después, cada tubo se inoculó con alícuotas de 100 μ L de cultivo de *E. cloacae* (Díaz-Vela *et al.*, 2013; Andrade *et al.*, 2020).

Para determinar el comportamiento de *E. cloacae* en cada subproducto de mango, se tomaron en cuenta siete tiempos de evaluación durante 30 h (0, 3, 6, 9, 12, 24 y 30 h después de la inoculación de la bacteria).

Para esto, se utilizó el método de recuento en placa, donde de cada tubo con producto de mango previamente inoculado, se tomó 1 mL de muestra por cada tiempo de medición y se realizaron diluciones decimales seriadas. Posteriormente, se tomaron 100 μ L de muestra de cada dilución y se esparcieron en placas de Agar Soya Trypticaseína (TSA; BD Bioxon, México) con una varilla de vidrio, hasta que la superficie del agar estuvo completamente seca. Las placas se incubaron a 37°C durante 18 horas; el conteo se realizó con la ayuda del equipo contador de colonias Scan® 1200 (Interscience, France). El experimento se realizó por duplicado para cada producto de mango Ataulfo y por triplicado para todas las diluciones y placas seriadas. Los resultados se expresaron como log UFC / mL.

4.4.3 Análisis de utilización de fuentes de carbono por *E. cloacae*

La utilización de fuentes de carbono por parte de *E. cloacae* se analizó utilizando microplacas preconfiguradas biolog PM1 y PM2A (BiOLOG Eco, EE. UU.), las cuales contienen 95 fuentes de carbono cada una, además de un control sin fuente de carbono añadida.

Siguiendo las instrucciones del fabricante, se preparó una suspensión bacteriana de *E. cloacae* y se inocularon 100 μ L de esta en cada uno de los pocillos de las placas, las cuales fueron incubadas en el equipo OmniLog (BiOLOG Eco, EE. UU.) a 37°C. Cada pocillo contenía además de una fuente de carbono, colorante violeta de tetrazolio como indicador redox, ya que, al ocurrir la respiración celular, el tetrazolio se reduce a formazán y produce un color púrpura con el cual se puede medir el carbono consumido por el microorganismo. Los resultados se obtuvieron en términos de absorbancia, que, de acuerdo con los fundamentos del método, es directamente proporcional a la tasa respiratoria y al consumo de cada sustrato evaluado. La absorbancia se midió cada 15 minutos, durante 48 horas, los resultados se expresaron como densidad óptica (DO). Esta prueba se realizó por triplicado.

4.5 Análisis estadístico

Para los análisis proximales se realizó un análisis de estadística descriptiva en el software Microsoft Excel versión 2109, se presentan los valores de la media y la desviación estándar. Para evaluar el efecto de los tres productos de mango Ataulfo en la proliferación de *E. cloacae* se realizaron pruebas de normalidad a los datos obtenidos (Shapiro-Wilk) y posteriormente se aplicó un análisis de varianza, con una prueba de tukey para la comparación de medias, tomando un valor de significancia de p menor de 0.05, utilizando el programa GraphPad Prism 7.

5. RESULTADOS

5.1 Resultados de Análisis Proximales

5.1.1 Contenido de humedad, proteína, grasa y ceniza de la pulpa, cáscara y fibra aislada de mango Ataulfo

Los resultados sobre la humedad, proteína, grasa y ceniza de los tres derivados de mango se presentan en la **Tabla 1**. La fibra aislada presentó el mayor porcentaje de humedad con un 8.55 %, seguido por la pulpa, con un 6.92 % y la cáscara con un 5.38 %.

De igual manera, la fibra fue el producto que presentó el mayor porcentaje de proteínas (5.31 %), mientras que la pulpa y la cáscara reportaron contenidos similares entre sí (3.26 % y 3.57 %, respectivamente). La fibra aislada de cáscara de mango cuenta con un mayor contenido de cenizas (6.05%) seguida de la cáscara (3.98 %) y la pulpa (2.38 %).

Con respecto a la grasa presente, se encontró que la cáscara contiene casi el doble de lo reportado para la pulpa y la fibra de cáscara de mango, con un 2.68 %, 1.29 % y 1.38 %, respectivamente.

Tabla 1. Composición química de pulpa, cáscara y fibra aislada de mango Ataulfo, expresado en porcentaje (%).

	PORCENTAJES		
	PULPA	CÁSCARA	FIBRA DE CÁSCARA
HUMEDAD	6.92 ± 0.12	5.38 ± 0.01	8.55 ± 0.09
PROTEINA	3.26 ± 0.24	3.57 ± 0.70	5.31 ± 0.22
GRASA	1.29 ± 0.00	2.68 ± 0.02	1.38 ± 0.02
CENIZAS	2.38 ± 0.04	3.98 ± 0.24	6.05 ± 0.04

5.1.2 Contenido de fibra dietaria de pulpa, cáscara y fibra aislada de mango Ataulfo

En general los derivados de mango reportaron un alto contenido de fibra dietaria y un buen equilibrio entre las fracciones **Tabla 2**.

Tabla 2. Contenido de fibra dieteria soluble, insoluble y total de la pulpa, cáscara y fibra aislada de mango Ataulfo.

	PORCENTAJES		
	PULPA	CÁSCARA	FIBRA AISLADA DE CÁSCARA
FIBRA SOLUBLE	6.18 ± 0.73	18.48 ± 2.71	39.97 ± 1.69
FIBRA INSOLUBLE	4.53 ± 0.62	21.91 ± 0.31	41.04 ± 1.42
FIBRA TOTAL	10.71 ± 2.55	40.4 ± 0.06	81 ± 0.19

Sobre el porcentaje de fibra total (**Figura 4**), la fibra aislada fue el derivado de mango que presentó mayor contenido (81 %), esto es un poco más del doble que lo reportado por la cáscara (40.40 %), mientras que la pulpa presentó la menor cantidad de fibra total entre los tres derivados (10.71 %)

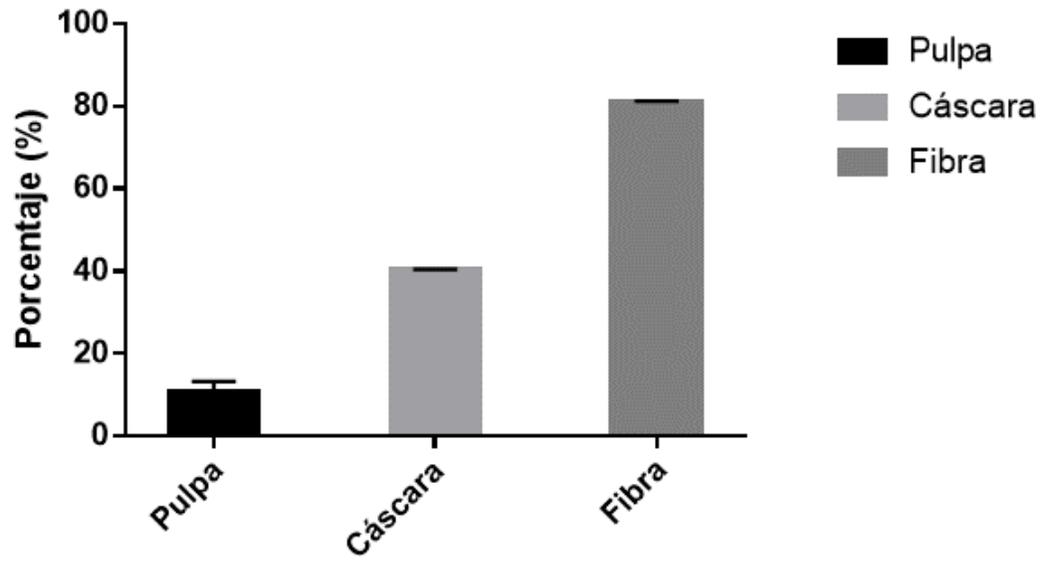


Figura 4. Composición de fibra dietaria total en pulpa, cáscara y fibra aislada de mango Ataulfo (indicada como Fibra).

Por su parte se encontró que, en la fibra aislada de la cáscara de mango, la fracción de fibra insoluble fue ligeramente superior a la fracción soluble, con contenidos de 41.04 % y 39.97 %, respectivamente. Adicionalmente, cuando se determinó el contenido de ambas fracciones en la cáscara fresca, la proporción de fibra insoluble (21.91 %) vs soluble (18.48 %) se mantuvo mayor pese a la presencia de los otros componentes contenidos en la cáscara. En relación a la distribución del tipo de fibra en la pulpa, contrariamente a la composición de la cáscara, la proporción de fibra soluble, fue superior a la insoluble, con contenidos de 6.18 % y 4.53 %, respectivamente. En consideración de los contenidos diferenciales de ambas fracciones en los tres derivados de mango, se puede deducir que la tasa de aporte de fracciones de fibra dietaria es relativamente proporcional demostrando los aportes benéficos del mango a la dieta humana (**Figura 5**).

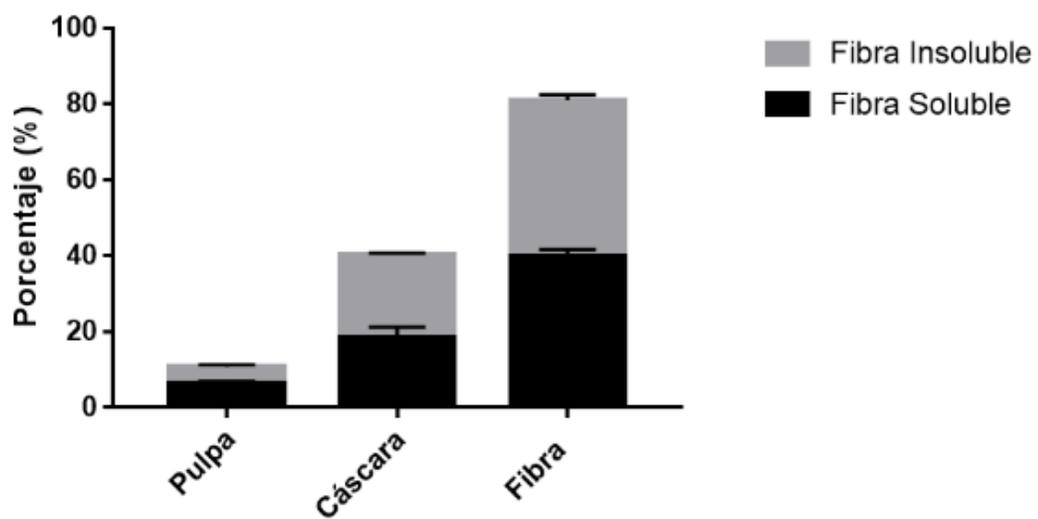


Figura 5. Contenido de fibra soluble e insoluble en pulpa, cáscara y fibra aislada de mango Ataulfo.

5.1.3 Contenido de azúcares disponibles en la pulpa, cáscara y fibra aislada de mango Ataulfo

Los datos sobre azúcares disponibles expresan un mayor porcentaje en la pulpa (73.20 %) seguido por la cáscara (31.66 %) y al final la fibra con 0.94 % (**Figura 6**).

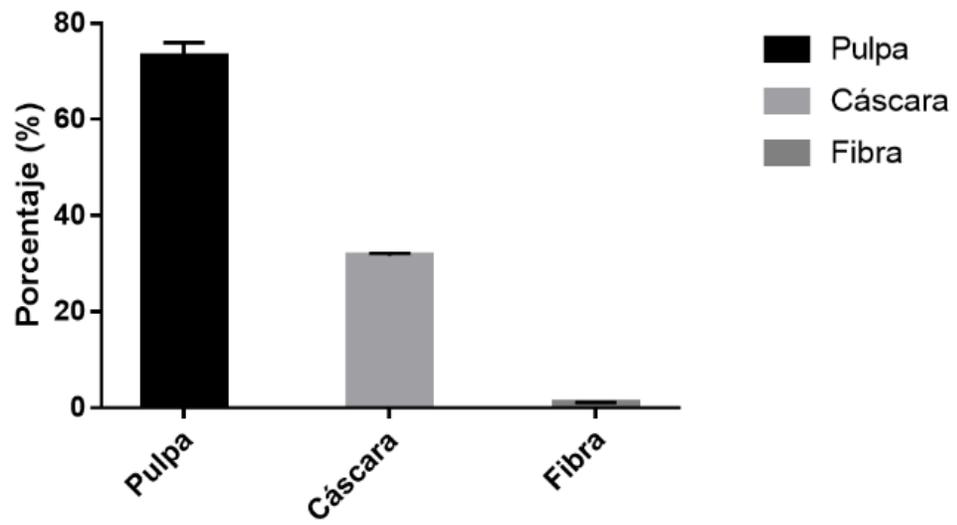


Figura 6. Contenido de azúcares disponibles en pulpa, cáscara y fibra aislada de mango Ataulfo.

Por su parte, la sacarosa, fue el azúcar que se presentó en mayor cantidad, con un porcentaje de 52.86 % en la pulpa, 20.22 % en la cáscara y 0.66 % en la fibra aislada. El siguiente azúcar de mayor contenido fue la fructosa, 15.29 %, 8.23 % y 0.22 % en la pulpa, cáscara y fibra, respectivamente, y, por último, la glucosa fue el azúcar menos predominante con valores de 5.05 % en la pulpa, 3.21 % en cáscara y 0.07 % en la fibra aislada (**Tabla 3**).

Tabla 3. Contenido de azúcares disponibles en la pulpa, cáscara y fibra aislada de mango Ataulfo, expresado en porcentajes (%)

	PORCENTAJES		
	PULPA	CÁSCARA	FIBRA DE CASCARA
Azúcares disponibles	73.2 ± 2.78	31.66 ± 0.49	0.94 ± 0.17
Glucosa	5.05 ± 0.12	3.21 ± 2.98	0.07 ± 2.30
Fructosa	15.29 ± 0.40	8.23 ± 0.17	0.22 ± 0.01
Sacarosa	52.86 ± 0.25	20.22 ± 0.45	0.66 ± 0.04

5.2 Crecimiento de *Enterobacter cloacae* en presencia de derivados de mango Ataulfo predigeridos

Para evaluar el efecto de la pulpa, cáscara y fibra aislada de mango Ataulfo, en la proliferación de *E. cloacae*, se comparó el crecimiento bacteriano en escala de logaritmos, mediante la multiplicación del inóculo en los diferentes derivados del mango en estudio (previamente sometidos a un proceso de predigestión). Los periodos de incubación fueron de 30 horas. Además, se utilizó glucosa como control positivo para comparar el índice de crecimiento en este, al ser la principal fuente de carbono utilizada por enterobacterias. Los resultados de esta variable en el experimento se concentran en la **Tabla 4**.

Tabla 4. Proliferación de *Enterobacter cloacae* en presencia de pulpa, cáscara y fibra aislada de mango Ataulfo y glucosa.

Tiempo (h)	Aumento en Log UFC/ml ¹							
	Pulpa		Cáscara		Fibra aislada		Glucosa	
	media	DE ²	media	DE	media	DE	media	DE
0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
3	0.000	0.000	0.072	0.102	0.069	0.023	0.594	0.130
6	0.038	0.054	0.291	0.108	0.174	0.198	0.777	0.110
9	0.167	0.025	0.455	0.175	0.169	0.071	0.882	0.023
12	0.789	0.103	1.246	0.066	0.096	0.068	1.192	0.008
24	0.133	0.161	0.475	0.122	0.008	0.011	1.333	0.006
30	0.029	0.014	0.204	0.238	0.006	0.008	1.292	0.035

¹Log UFC/ml: logaritmos de unidades formadoras de colonias por mililitro.

²DE: desviación estándar.

Al comparar el crecimiento de *E. cloacae* tras las primeras 3 horas, se reporta una diferencia significativa ($p < 0.0001$) frente a los derivados de mango y la glucosa por igual, resaltando que *E. cloacae* tuvo un mayor incremento (0.594 log UFC/ml) en su crecimiento en glucosa como fuente de carbono. Estos resultados se repiten tras 6 horas de exposición y de nuevo existe una diferencia significativa ($p < 0.0001$) entre los tres productos de mango y la glucosa; en este tiempo el incremento de la glucosa fue de 0.777 log UFC/ml, mientras que en la pulpa, cáscara y fibra aislada de cáscara fue de 0.038, 0.291 y 0.174 log UFC/ml, respectivamente.

Este comportamiento fue continuo y después de 9 horas de incubación, el medio suplementado con glucosa mantuvo el mayor crecimiento de *E. cloacae*, con un incremento de 0.882 log UFC/ml, que correspondió a una diferencia significativa ($p < 0.0001$) frente a los derivados de mango en estudio. Por otra parte, en este tiempo se encontraron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los productos derivados del mango, donde la cáscara reportó un incremento mayor (0.455 log UFC/ml) en comparación con la pulpa (0.167 log UFC/ml) y la fibra aislada de cáscara (0.169 log UFC/ml).

El siguiente tiempo de medición fue a las 12 horas, aquí se presentó el punto más alto de crecimiento durante todo el experimento para la cáscara (1.246 log UFC/ml), glucosa (1.192 log UFC/ml) y pulpa (0.789 log UFC/ml), mientras que la fibra aislada presentó un menor incremento (0.096 log UFC/ml). El crecimiento en glucosa fue superior a la fibra y pulpa ($p < 0.05$). Por su parte, la pulpa tuvo un incremento significativo mayor que el de la fibra, pero menor que el de la cáscara y glucosa ($p < 0.05$).

A las 24 horas de exposición, la glucosa alcanzó el mayor incremento en general entre todos los sustratos y tiempos de medición, aumentando la proliferación de *E. cloacae* hasta en 1.333 log UFC/ml, con una diferencia significativa ($p < 0.05$) entre ésta y todos los materiales de mango. En este punto de medición también se encontraron diferencias significativas ($p < 0.05$)

entre el aumento logarítmico de la cáscara (0.475 log UFC/ml), comparado con la pulpa (0.133 log UFC/ml) y la fibra (0.008 log UFC/ml).

La última medición se realizó a las 30 horas de exposición, donde la glucosa alcanzó un crecimiento estable, y los derivados de mango expresaron una tendencia a disminuir la proliferación de *E. cloacae*. Debido a esto la glucosa reportó un crecimiento significativamente mayor ($p < 0.05$) al de la pulpa, cáscara y fibra; mientras que entre los productos de mango no hubo diferencias estadísticamente significativas.

El comportamiento de cada derivado de mango y del control de glucosa se ejemplifica de manera clara en la **Figura 7**.

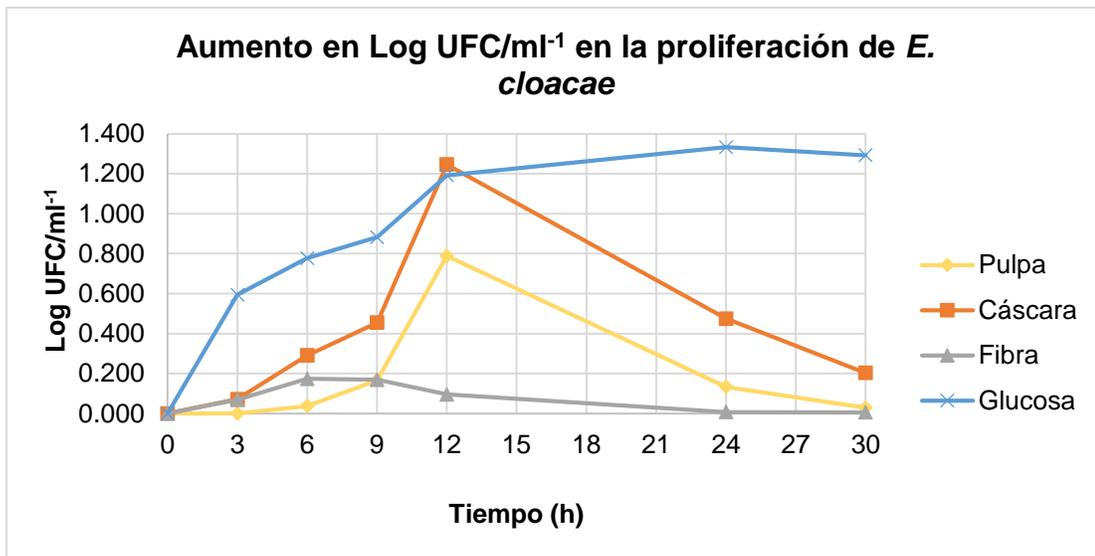


Figura 7. Crecimiento diferencial de *E. cloacae* en cultivo *in vitro* enriquecido con glucosa vs pulpa, cáscara y fibra aislada de mango Ataulfo.

5.3 Análisis de utilización de fuentes de carbono con Biolog

Se analizó el consumo de 190 fuentes de carbono durante 48 horas por parte de *E. cloacae*, encontrando que este microorganismo tiene la capacidad de utilizar una gran cantidad de estos sustratos. La **Figura 8** representa un mapa de calor sobre la utilización de las fuentes de carbono contenidas en la placa PM1, donde se reporta que *E. cloacae* utilizó en gran medida 67 fuentes de carbono, principalmente carbohidratos (15), aminoácidos (11), aminoazúcares, azúcares ácidos y azúcares alcohol (10), ácidos orgánicos (9) y otros sustratos clasificados como misceláneos (22). Mientras que 28 fuentes de carbono presentaron una baja utilización por parte de este microorganismo.

Los resultados de la placa PM2A se concentran en la **Figura 9**, donde la utilización de fuentes de carbono fue menor a la placa PM1, y sólo 32 sustratos fueron utilizados por *E. cloacae*, entre aminoazúcares, azúcares ácidos y azúcares alcohol (11), carbohidratos (8), ácidos orgánicos (2) y compuestos misceláneos (11). Las 63 fuentes de carbono restantes de la placa presentaron una baja o nula utilización por esta bacteria.

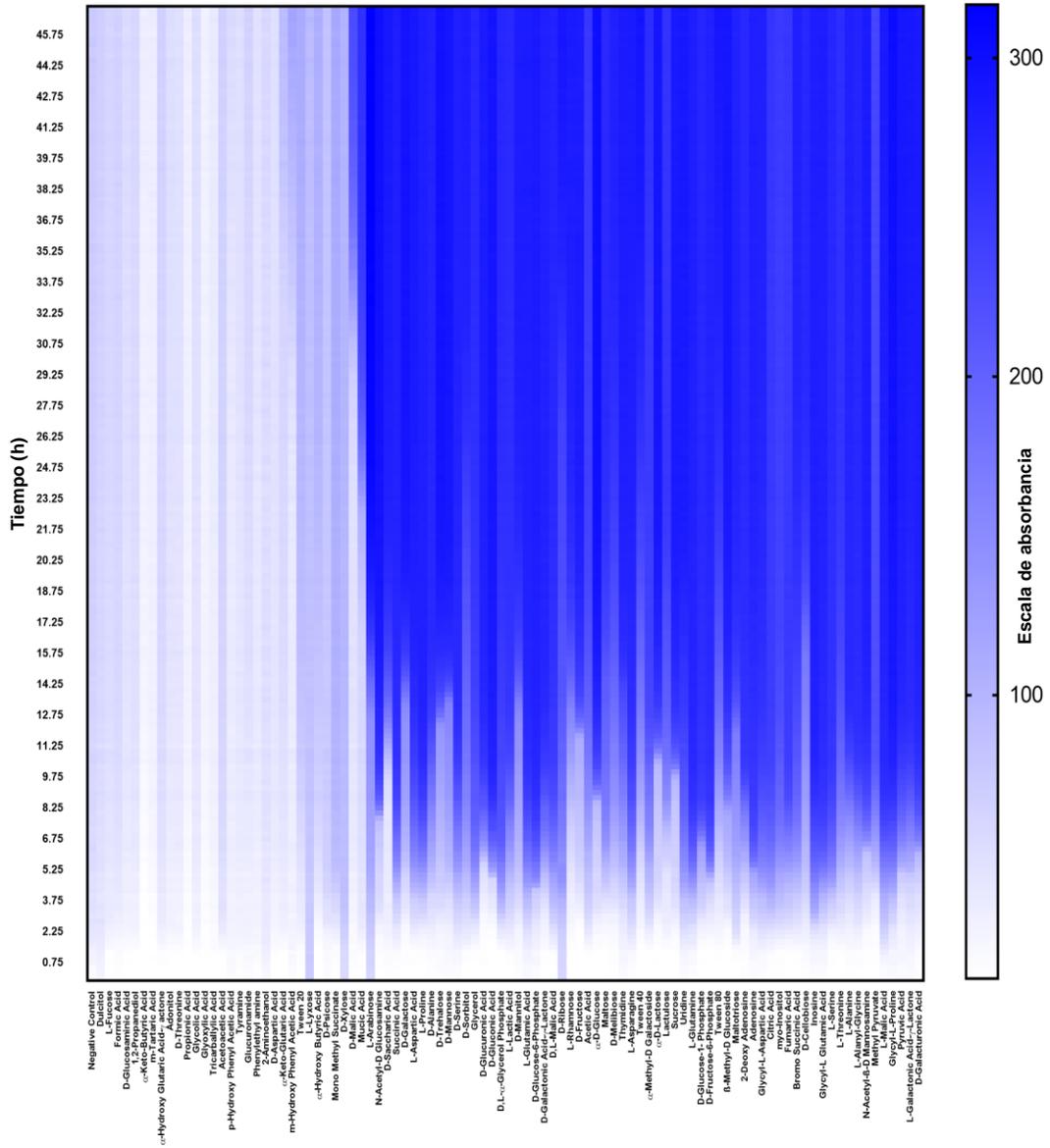


Figura 8. Mapa de calor sobre la utilización de fuentes de carbono por *E. cloacae*, placa PM1.

Cada línea vertical representa el metabolismo de cada fuente de carbono presentes en la placa PM1 y los incrementos sobre la absorbancia durante 48 horas.

La **Figura 10** presenta la utilización de los sustratos de interés en este proyecto por parte de *E. cloacae* por ser componentes presentes en el mango Ataulfo: carbohidratos (**Figura 10A y B**) y ácidos orgánicos (**Figura 10C y D**), según los resultados obtenidos sobre la composición química de la pulpa, cáscara y fibra aislada, mencionados en el apartado anterior y complementado por lo descrito previamente por nuestro equipo de trabajo (Vélez de la Rocha *et al.*, 2021).

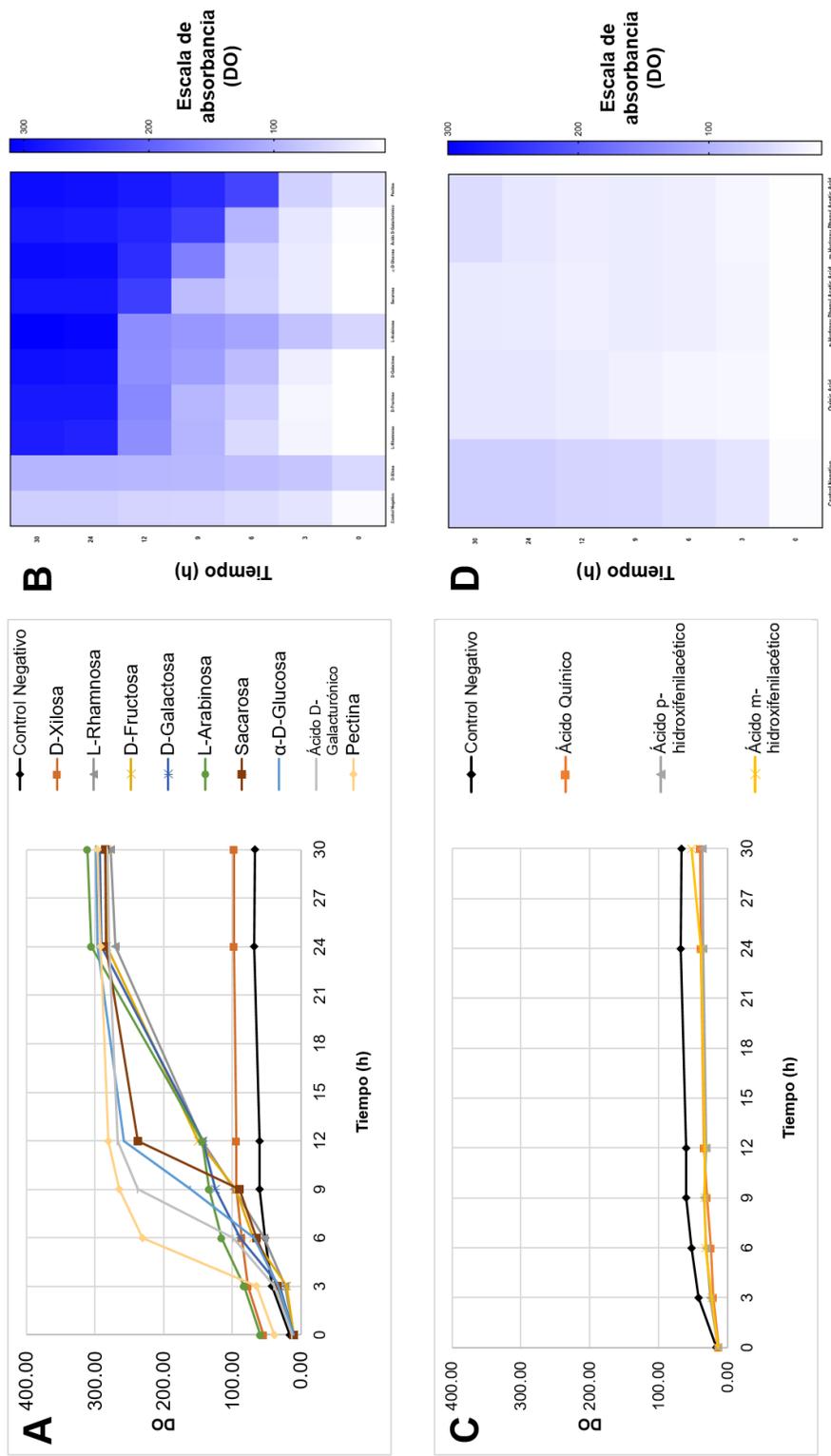


Figura 10. Gráfica lineal y mapa de calor sobre la utilización de fuentes de carbono de interés por *E. cloacae*. (A) Gráfica lineal sobre la utilización de carbohidratos de interés. (B) Mapa de calor sobre la utilización de carbohidratos de interés. (C) Gráfica lineal sobre la utilización de ácidos orgánicos de interés. (D) Mapa de calor sobre la utilización de ácidos orgánicos de interés.

Uno de los carbohidratos mejor aprovechado por *E. cloacae* fue la glucosa, que expresó una utilización en constante aumento, y alcanzó su punto máximo de utilización después de 24 horas (DO= 297).

Por su parte, la sacarosa, expresó un comportamiento similar a la glucosa, llegando a un valor máximo de consumo a las 18 horas, con una DO por encima de 280.

Sobre la fructosa su punto más alto de utilización por parte *E. cloacae* se registró a partir de las 22 horas, cuando alcanzó la DO de 280.667.

La arabinosa mostró un elevado nivel de utilización desde los primeros tiempos de medición, ya que comenzó con una DO de 58, llegando a 300 después de 22 horas.

La xilosa, al igual que la arabinosa, fue utilizada por *E. cloacae* desde los primeros tiempos de medición, con una DO de 54.67 al tiempo 0, pero a diferencia de la arabinosa, su utilización fue modesta, su punto máximo fue a las 24 horas con una DO de 97.

Por su parte, la galactosa presentó su pico más alto de consumo (DO= 290) a las 24 horas, manteniendo una tendencia en aumento durante toda la prueba.

La ramnosa alcanzó valores de DO de 97.67 a las 9 horas, incrementando a más de 140 después de las 12 horas, llegando a más de 270 al final de la prueba.

El ácido D-galacturónico fue rápidamente utilizado por *E. cloacae*, alcanzó una DO de 237.67 después de solo 9 horas de exposición, con una tendencia en aumento en los siguientes tiempos de medición.

La pectina comenzó con un consumo elevado desde el punto cero (DO=38.667) en comparación con otras fuentes de carbono, además de forma acelerada alcanzó una DO de 230.67 después de sólo 6 horas de incubación, superando la DO de 280 a las 12 horas.

En cuanto a los ácidos orgánicos, precursores de compuestos fenólicos, los datos del Biolog muestran que *E. cloacae* no utilizó estos sustratos, ya que registraron valores menores a los del control negativo (**Figura 10C y D**).

6. DISCUSIÓN

El estudio de la composición química de los componentes del mango Ataulfo se aborda desde la importancia en su aprovechamiento en áreas de la alimentación, salud, innovación y seguridad alimentaria; sin embargo, las investigaciones encaminadas a describir su interacción con bacterias de la microflora intestinal tienen una menor exploración.

El contenido de proteína, grasa y ceniza de la pulpa obtenidos en la presente investigación, coincide con los reportados por Patiño-Rodríguez (2020) al igual que la fibra total (10.7 % vs 11.7 %, respectivamente). Sin embargo, estos valores difieren con lo publicado por Blancas-Benítez (2015), quien reporta un mayor contenido de fibra dietaria total, de 14.9 %, en una pasta de pulpa de mango Ataulfo. Esta diferencia podría deberse a características como el lugar donde fue cultivada la fruta, el estado de maduración, el método para cuantificar la fibra o incluso que, en el caso del estudio de Blancas-Benítez, la pasta de pulpa que ellos analizaron fue recolectada de una planta de procesamiento de jugos y concentrados de mango, por lo que esta podría contener restos de cáscara, mientras que en nuestro estudio, así como en el de Patiño-Rodríguez, la pulpa fue separada totalmente de la cáscara de forma manual (Blancas-Benitez *et al.*, 2015; Patiño-Rodríguez *et al.*, 2020).

Los resultados en el porcentaje de humedad, proteína, grasa y ceniza de la cáscara concuerdan con lo publicado previamente por Rojas en el 2015 y Torres-León en el 2018 (Rojas *et al.*, 2015; Torres-León *et al.*, 2018). Sobre el contenido de fibra total, este trabajo reporta 40.4 %, valores similares a los publicados por Patiño-Rodríguez (40.5 %) y Blancas-Benítez (41.34 %) (Blancas-Benitez *et al.*, 2015; Patiño-Rodríguez *et al.*, 2020).

Sobre la composición química de los tres productos derivados del mango Ataulfo, se determinó, que en la pulpa el principal componente encontrado fueron los azúcares totales (73.2 %), donde predominó la sacarosa, seguido de la fibra total (10.7 %), mientras que, en la cáscara y la

fibra aislada, el principal componente fue la fibra total con 40.4 % y 81 % respectivamente. El contenido de azúcares disponibles en la cáscara fue de 31.66 % y en la fibra aislada fue menor al 1 %. Otro punto importante es que en los tres materiales se observa un equilibrio entre los porcentajes de fibra soluble e insoluble, lo cual se considera como un indicador de buena calidad de fibra dietaria (Velez de la Rocha *et al.*, 2021), además hay que destacar que de acuerdo a lo establecido por la Comisión Europea, se considera que un alimento aporta un alto contenido de fibra si contiene al menos 3 % de fibra dietaria; por lo tanto la pulpa, cáscara y fibra aislada de mango Ataulfo pertenecen a dicha clasificación [European Commission, (n.d)], y el aporte fisiológico esperado es de grandes beneficios ya que el consumo de fibra previene enfermedades cardiovasculares, diabetes, trastornos gastrointestinales y estreñimiento. Las fibras solubles tienen la capacidad de absorber agua, formando geles hidratados que por arrastre atrapan lípidos y azúcares, lo que puede ayudar a reducir los niveles de colesterol y glucosa en sangre, por la vía del retraso en el vaciado gástrico y de la reducción de la absorción a nivel de epitelio intestinal. Por su parte, las fibras insolubles ayudan a prevenir trastornos gastrointestinales ya que aumentan el volumen fecal y el contenido de agua de las heces debido a su alta capacidad de adsorción de agua que, a su vez, estimula mecánicamente la secreción de moco y el peristaltismo. Dado que cada tipo de fibra cumple una función importante en la salud humana, es necesario promover su consumo, y buscar alimentos o ingredientes funcionales que cumplan con el equilibrio entre ambas fracciones (Jahan *et al.*, 2020; Müller *et al.*, 2018).

Este alto contenido de fibra, específicamente el de la cáscara de mango Ataulfo es menor que el de otras variedades como la Raspuri (54.9 %) y Badami (72.5 %), originarias de la India (Ajila *et al.*, 2013). Mientras que, es mayor al de otros cultivares como Manila (35.41 %) y Tommy Atkins (11.23 %), que también se cultivan en nuestro país. Quizás estas diferencias se deban a

las características físicas y ambientales del lugar de origen de cada variedad (Medina-Rendon *et al.*, 2021; Pérez-Chabela *et al.*, 2021).

La demanda de productos procesados de mango ha incrementado en los últimos años, por ejemplo, en Estados Unidos, entre el año 2003 y 2014, la importación de mango procesado aumentó en más de un 200 % (Siddiq *et al.*, 2017), duplicando la producción de mango a nivel mundial en las últimas dos décadas (FAO, 2019) lo que representa que, a mayor producción, seguramente mayor consumo y con ello, un mayor número de personas pudieran estar recibiendo los beneficios del mango Ataulfo.

Los principales productos procesados de mango incluyen jugos, néctares, purés, mermeladas, encurtidos y pulpa (congelada, enlatada o deshidratada), generalmente sin cáscara ni semillas, las cuales representan alrededor del 35-60 % del peso total de la fruta (Siddiq *et al.*, 2017). De lo anterior y en consideración de que, la producción anual de mango es de aproximadamente 41.5 millones de toneladas, se puede estimar que anualmente, se generan entre 15 y 25 millones de toneladas de desechos de cáscaras y semillas, lo que representa una oportunidad de su aprovechamiento en la obtención de compuestos bioactivos y fibra dietaria (FAO, 2019; Marçal *et al.*, 2021).

Las cáscaras de mango en particular, son una excelente fuente de fibra dietaria, con alto potencial de reutilización como fuente de ingredientes funcionales y prebióticos (Andrade *et al.*, 2020; Tomás-Barberán *et al.*, 2016). La reutilización de las cáscaras de mango en el desarrollo de nuevos alimentos, como productos de pastelería tipo galletas, barras, bísquets o harinas, representa una nueva fuente de ingresos para las industrias procesadoras de mango, también reduce los desechos biológicos y le otorga un valor agregado a este subproducto, al mismo tiempo que se mejoran las características nutrimentales y funcionales de los alimentos fortificados con el (de Sousa *et al.*, 2021; Hernández-Maldonado *et al.*, 2019; Marçal *et al.*, 2021).

Los efectos de los prebióticos sobre la microbiota intestinal y en cepas probióticas específicas, están condicionados a factores como la estructura del carbohidrato, la composición de monosacáridos, así como el conjunto de enzimas que se encuentran en cada microorganismo (Biedrzycka *et al.*, 2004; Li *et al.*, 2008).

Por lo anterior, es importante conocer la capacidad prebiótica en la proliferación de microorganismos benéficos y su efecto inhibitorio de microorganismos patógenos que brinden beneficios ampliados en la salud humana. Andrade *et al.* (2020), reportaron que derivados (pulpa y semillas) de frutas de palmas cultivadas en Latinoamérica como son Jerivá (*Syagrus romanzoffiana*) y Macaúba (*Acrocomia aculeata*), no presentaron un efecto inhibitorio sobre el crecimiento de *Escherichia coli* (*E. coli*); mientras que, los subproductos derivados de acerola fueron eficientes en la reducción del crecimiento de *E. coli* (Vieira *et al.*, 2017). Se ha reportado que *E. coli* puede participar en la desaminación de aminoácidos y la fermentación de proteínas, por lo cual se sugiere que la presencia de proteína, puede ser un factor que influye en la actividad inhibitoria de microorganismos patógenos (Ma *et al.*, 2018). Adicionalmente a la influencia proteica, según Vieira *et al.* (2017), los compuestos fenólicos interfieren en los procesos de fermentación proteica. Esto es posible dado que ciertos polifenoles exhiben actividad antimicrobiana contra algunas bacterias, y también porque pueden ser degradados por la microbiota intestinal para ser utilizados a favor de ciertos microorganismos, teniendo así efectos moduladores en este ecosistema (Aravind *et al.*, 2021; Kumar-Singh *et al.*, 2019).

En la presente investigación, el crecimiento de *E. cloacae* en presencia de los tres productos derivados del mango Ataulfo (pulpa, cáscara y fibra aislada) fue menor que el crecimiento en el medio suplementado con glucosa, sugiriendo un efecto inhibitorio y una capacidad diferencial de aprovechamiento en las fuentes de carbono. Esto fue posteriormente confirmado en los resultados del estudio Biolog que brindó el perfil diferencial

del metabolismo de carbono por *E. cloacae*, donde la utilización de glucosa alcanzó un punto máximo de absorbancia después de 24 horas (**Figura 10A**), al igual que en la curva de crecimiento, donde registró un incremento de 1.333 Log UFC/ml (**Figura 7**).

En el caso de la utilización de los productos derivados del mango, pulpa, cáscara y fibra aislada, también existieron diferencias entre ellos, en especial a las 12 horas, donde se registró el mayor incremento de Log en la proliferación de *E. cloacae* en presencia de la cáscara y pulpa. La cáscara fue en general el subproducto que permitió el mayor incremento en este microorganismo (1.246 Log UFC/ml), seguida de la pulpa (0.789 Log UFC/ml) y al final la fibra (0.174 Log UFC/ml). Comportamiento que se mantuvo durante toda la prueba.

La composición de los materiales es un punto clave para buscar una posible explicación a lo anterior. Por su parte, la pulpa presentó el mayor porcentaje de azúcares libres, principalmente sacarosa, que acorde a los resultados del Biolog es fácilmente utilizada por *E. cloacae*, y tiene un comportamiento similar a la glucosa (**Figura 10A**), sin embargo, en la curva de crecimiento, la proliferación de esta bacteria es siempre menor al estar en contacto con la pulpa que con el control de glucosa, posiblemente porque el proceso de predigestión al que la pulpa y demás derivados fueron sometidos, disminuyó considerablemente el contenido de azúcares libres, entre estos la sacarosa.

Sin embargo *E. cloacae* si presentó un leve crecimiento en presencia de la pulpa (punto máximo 0.789 Log UFC/ml a las 12 horas) que podría explicarse por el contenido de fibra dietaria (10.71 %) en este sustrato, sobre todo fibra soluble (6.18 %). La fibra soluble de la pulpa de mango Ataulfo contiene pectina, en valores que oscilan entre 1.8 y 2.2 g/100 g (Bello-Pérez *et al.*, 2007; Maldonado-Celis *et al.*, 2019). Este polisacárido tiene una composición compleja, caracterizada por la presencia de los monosacáridos arabinosa, galactosa y el ácido galacturónico (Domínguez-Avila *et al.*, 2018;

Zdunek *et al.*, 2021); estos, e incluso la pectina misma, reportaron ser altamente utilizados por *E. cloacae* por el método Biolog (**Figura 10B**).

Los tres productos derivados del mango sufrieron esta reducción en los porcentajes de azúcares libres dejando a los polisacáridos complejos como residuos capaces de interactuar con *E. cloacae*. Esto podría explicar porque la cáscara contribuyó a una mayor proliferación de *E. cloacae* que la pulpa; la cáscara también es fuente de pectina, arabinosa, galactosa y ácido galacturónico (Rojas *et al.*, 2020) en una mayor concentración que la pulpa debido al mayor porcentaje de fibra dietaria total de la cáscara (40.4 %).

Sin embargo, la fibra aislada presenta la mayor concentración de fibra dietaria total (81 %) entre los tres productos derivados de mango, y aun así su efecto en la proliferación de *E. cloacae* fue el menor de todos, incluido el control de glucosa.

El comportamiento de la fibra aislada podría explicarse por la presencia de lignina en la cáscara de mango Ataulfo (García-Magaña *et al.*, 2013); al obtener la fibra aislada a partir de la cáscara, este subproducto contiene una mayor concentración de lignina. La lignina es un tipo de fibra insoluble con características antimicrobianas (Lobo *et al.*, 2021; Verduzco-Oliva *et al.*, 2020), debidas en gran medida a la capacidad de esta fibra de retener en su estructura a compuestos fenólicos (Luo *et al.*, 2021).

La acción antimicrobiana de los polifenoles esta mediada por mecanismos relacionados a generar cambios en la permeabilidad y polarización de la membrana celular de los microorganismos, evitando su crecimiento, así como la habilidad de modificar la regulación de genes asociados con factores de virulencia de la bacteria, como su motilidad, adherencia y la generación de biofilms (Gomes-Araújo *et al.*, 2021; Lima *et al.*, 2019).

Para ejercer cualquier efecto, los compuestos fenólicos primero deben volverse bioaccesibles, al liberarse de la matriz alimentaria que los contiene (Quirós-Sauceda *et al.*, 2019). Sobre esto, Liu *et al.* (2013) reportaron un

análisis comparativo del genoma de *E. cloacae* y su habilidad para degradar lignina (Liu *et al.*, 2013), lo que sugiere la capacidad de *E. cloacae* para liberar compuestos fenólicos polimerizados y potencialmente explica la proliferación de esta bacteria en el medio con fibra dietaria aislada.

Además del efecto antimicrobiano de los compuestos fenólicos, es importante resaltar que la capacidad de *E. cloacae* para utilizar algunos precursores de polifenoles incluidos en el método Biolog (**Figura 10C**) fue casi nula, con valores por debajo del control negativo.

Uno de estos es el ácido quínico, precursor del ácido clorogénico, principal compuesto fenólico presente en la cáscara de mango Ataulfo (Blancas-Benitez *et al.*, 2015; Wall-Medrano *et al.*, 2020). Este compuesto reporta una fuerte acción anti *E. cloacae*, según lo publicado por diversos autores, aunque el mecanismo de acción específico es aún desconocido (Almeida *et al.*, 2006; Munyendo *et al.*, 2021). Sin embargo, Almeida *et al.* (2021) destaca que, a mayor concentración de ácido clorogénico, mayor inhibición de la proliferación bacteriana. El contenido de ácido clorogénico en la cáscara de mango Ataulfo, permite inferir una mayor concentración en la fibra aislada de este subproducto, por lo que podría ser otra explicación al leve crecimiento de *E. cloacae* en presencia de esta.

Sin embargo, es importante mencionar que, en condiciones fisiológicas normales, estos residuos de fibra y compuestos bioactivos llegan al colon donde son utilizados por las bacterias de la microbiota intestinal (Rinninella *et al.*, 2019). El microbioma intestinal humano es un ecosistema complejo donde los cientos de especies microbianas que lo conforman consumen, producen e intercambian una infinidad de metabolitos (T. Wang *et al.*, 2019). Fenómeno que se conoce como alimentación cruzada (Turróni *et al.*, 2018).

En este sentido es importante resaltar la capacidad de la fibra dietaria y de los polifenoles de modular la microbiota intestinal al promover el crecimiento de especies microbianas intestinales específicas, como *Akkermansia* spp., o *Faecalibacterium* spp., reconocidas por proporcionar efectos beneficiosos

para la salud del huésped. Por ejemplo, *Akkermansia muciniphila* es una bacteria que degrada la mucina que reside en la capa mucosa del intestino grueso, con lo que estimula la producción de moco y la integridad de la barrera intestinal, además de ser una importante productora de AGCC, como el butirato que sirve de alimento a otras bacterias benéficas y a las mismas células epiteliales, manteniendo así un ambiente más favorable y armonioso en el intestino. Su abundancia está inversamente correlacionada con el peso corporal y con un perfil metabólico saludable (Danneskiold-Samsøe *et al.*, 2019; Geerlings *et al.*, 2018).

Por lo anterior sería interesante conocer el comportamiento que tendrían los productos derivados del mango Ataulfo en modelos *in vivo*, donde estas redes de interacciones entre microorganismos podrían presentar resultados interesantes sobre la proliferación de *E. cloacae* y de otras bacterias potencialmente benéficas.

7. CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en esta investigación permitieron determinar que los productos derivados de mango Ataulfo presentaron un efecto inhibitorio sobre la proliferación de *E. cloacae* en un modelo *in vitro*, en comparación con la glucosa, que logró un crecimiento máximo de 1.333 Log UFC/ml, mientras que en los derivados se alcanzó un crecimiento máximo de 1.246 Log UFC/ml en cáscara, 0.789 Log UFC/ml en pulpa, y al final 0.068 Log UFC/ml en la fibra aislada, con un descenso observable, en la proliferación de *E. cloacae* después de 12 horas de exposición a estos derivados de mango Ataulfo.

Lo anterior es respaldado por los datos del análisis metabólico, que demuestran una elevada utilización de glucosa, pectina, arabinosa, galactosa y ácido galacturónico, junto a un bajo aprovechamiento de los ácidos orgánicos por parte de *E. cloacae*. La composición química de la fibra aislada destaca por su elevada concentración de fibra dietaria, lignina y compuestos fenólicos, por lo tanto, el consumo de fibra aislada de la cáscara de mango Ataulfo podría influir en la disminución de la presencia de *E. cloacae* en la microbiota intestinal, y así aminorar la presencia de inflamación crónica de bajo grado y sus efectos en la promoción y prevalencia de la obesidad.

8. RECOMENDACIONES

Se recomienda continuar con el estudio *in vivo* de materiales como la fibra aislada, que no ha sido estudiada con anterioridad, para conocer el efecto que tendrá en un escenario fisiológico, donde las interacciones entre las diferentes especies de la microbiota intestinal juegan un papel clave en su misma modulación, y en los efectos que esta podría tener en la salud del hospedero.

Además, es importante destacar los resultados sobre la composición química de la fibra aislada y de la cáscara, que revela un alto contenido de fibra, así como niveles bajos de azúcares, en comparación con la pulpa, por lo que futuros estudios deberían enfocarse en explotar el potencial de estos derivados, que normalmente son descartados, y evaluar su potencial como ingredientes funcionales, ya que cuentan con grandes alcances en materia de modulación de la microbiota intestinal, y prevención de la obesidad.

9. REFERENCIAS

- Abenavoli, L., Scarpellini, E., Colica, C., Boccuto, L., Salehi, B., Sharifi-Rad, J., . . . Capasso, R. (2019). Gut microbiota and obesity: A role for probiotics. *Nutrients*, *11*(11), 2690. doi:10.3390/nu11112690
- Ajila, C. M., & Prasada Rao, U. J. S. (2013). Mango peel dietary fibre: Composition and associated bound phenolics. *J Funct Foods*, *5*(1), 444-450. doi:10.1016/j.jff.2012.11.017
- Almeida, A. A., Farah, A., Silva, D. A., Nunan, E. A., & Glória, M. B. (2006). Antibacterial activity of coffee extracts and selected coffee chemical compounds against enterobacteria. *J Agric Food Chem*, *54*(23), 8738-8743. doi:10.1021/jf0617317
- Amabebe, E., Robert, F. O., Agbalalah, T., & Orubu, E. S. F. (2020). Microbial dysbiosis-induced obesity: role of gut microbiota in homoeostasis of energy metabolism. *Br J Nutr*, *123*(10), 1127-1137. doi:10.1017/S0007114520000380
- Andrade, R. M. S., Silva, S., Costa, C., Veiga, M., Costa, E., Ferreira, M. S. L., . . . Pintado, M. E. (2020). Potential prebiotic effect of fruit and vegetable byproducts flour using *in vitro* gastrointestinal digestion. *Food Res Int*, *137*, 109354. doi:10.1016/j.foodres.2020.109354
- Anekwe, C. V., Jarrell, A. R., Townsend, M. J., Gaudier, G. I., Hiserodt, J. M., & Stanford, F. C. (2020). Socioeconomics of obesity. *Curr Obes Rep*, *9*(3), 272-279. doi:10.1007/s13679-020-00398-7
- Aravind, S. M., Wichienchot, S., Tsao, R., Ramakrishnan, S., & Chakkaravarthi, S. J. F. R. I. (2021). Role of dietary polyphenols on gut microbiota, their metabolites and health benefits. *Food Res Int*, *142*, 110189. doi:10.1016/j.foodres.2021.110189
- Ashaolu, T. J., Ashaolu, J. O., & Adeyeye, S. A. O. (2021). Fermentation of prebiotics by human colonic microbiota *in vitro* and short-chain fatty acids production: a critical review. *J Applied Microbiol* *130*(3), 677-687. doi:10.1111/jam.14843
- Bäckhed, F., Ding, H., Wang, T., Hooper, L. V., Koh, G. Y., Nagy, A., . . . Gordon, J. I. (2004). The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. *Proc Natl Acad Sci USA*, *101*(44), 15718-15723. doi:10.1073/pnas.0407076101
- Baraza Ruiz, E., Bota Salort, J. M., Romero Munar, A., & Nogales Fernández, B. (2019). Aplicación de la técnica Biolog™ ECO-plate para el estudio del perfil fisiológico de las comunidades microbianas del suelo agrícola. *Ecosistemas*, *28*(3), 46-53. doi:10.7818/ECOS.1687
- Baxter, N. T., Schmidt, A. W., Venkataraman, A., Kim, K. S., Waldron, C., & Schmidt, T. M. (2019). Dynamics of human gut microbiota and short-chain fatty acids in response to dietary interventions with three fermentable fibers. *mBio*, *10*(1). doi:10.1128/mBio.02566-18
- Bello-Pérez, L. A., García-Suárez, F., & Agama-Acevedo, E. (2007). Mango carbohydrates. *Food & Function*, *1*(1), 36-40.

- Benítez-Páez, A., Gómez Del Pulgar, E. M., Kjølbaek, L., Brahe, L. K., Astrup, A., Larsen, L., & Sanz, Y. (2016). Impact of dietary fiber and fat on gut microbiota re-modeling and metabolic health. *Trends Food Sci Technol*, *57*, 201-212. doi:10.1016/j.tifs.2016.11.001
- Berding, K., Carbia, C., & Cryan, J. F. (2021). Going with the grain: Fiber, cognition, and the microbiota-gut-brain-axis. *EBM*, *246*(7), 796-811. doi:10.1177/1535370221995785
- Bernal Castro, C. A., Díaz-Moreno, C., & Gutiérrez-Cortés, C. (2017). Probióticos y prebióticos en matrices de origen vegetal: Avances en el desarrollo de bebidas de frutas. *Rev Chil Nutr*, *44*, 383-392.
- Biedrzycka, E., & Bielecka, M. (2004). Prebiotic effectiveness of fructans of different degrees of polymerization. *Trends Food Sci Technol*, *15*(3-4), 170-175. doi: 10.1016/j.tifs.2003.09.014
- Blancas-Benitez, F. J., Mercado-Mercado, G., Quirós-Sauceda, A. E., Montalvo-González, E., González-Aguilar, G. A., & Sáyago-Ayerdi, S. G. (2015). Bioaccessibility of polyphenols associated with dietary fiber and *in vitro* kinetics release of polyphenols in Mexican 'Ataulfo' mango (*Mangifera indica* L.) by-products. *Food Funct*, *6*(3), 859-868. doi:10.1039/c4fo00982g
- Bochner, B. (1989). Breathprints at the microbial level. *ASM News*, *55*, 536-539. doi: 10.4236/jbise.2009.22013
- Burton-Freeman, B. M., Sandhu, A. K., & Edirisinghe, I. (2017). Mangos and their bioactive components: adding variety to the fruit plate for health. *Food Function*, *8*(9), 3010-3032. doi:10.1039/C7FO00190H
- Camilleri, M., Lyle, B. J., Madsen, K. L., Sonnenburg, J., Verbeke, K., & Wu, G. D. (2019). Role for diet in normal gut barrier function: developing guidance within the framework of food-labeling regulations. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, *317*(1), G17-g39. doi:10.1152/ajpgi.00063.2019
- Cândido, F. G., Valente, F. X., Grześkowiak, Ł. M., Moreira, A. P. B., Rocha, D. M. U. P., & Alfenas, R. d. C. G. (2018). Impact of dietary fat on gut microbiota and low-grade systemic inflammation: Mechanisms and clinical implications on obesity. *Int J Food Sci Nutr*, *69*(2), 125-143. doi:10.1080/09637486.2017.1343286
- Cani, P. D., Amar, J., Iglesias, M. A., Poggi, M., Knauf, C., Bastelica, D., . . . Chabo, C. (2007). Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance. *Diabetes*, *56*(7), 1761-1772. doi:10.2337/db06-1491
- Cani, P. D., & Jordan, B. F. (2018). Gut microbiota-mediated inflammation in obesity: a link with gastrointestinal cancer. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, *15*(11), 671-682. doi:10.1038/s41575-018-0025-6
- Cantarel, B. L., Lombard, V., & Henrissat, B. (2012). Complex carbohydrate utilization by the healthy human microbiome. *PLOS ONE*, *7*(6), e28742. doi:10.1371/journal.pone.0028742
- Chávez-Carbajal, A., Nirmalkar, K., Pérez-Lizaur, A., Hernández-Quiroz, F., Ramírez-del-Alto, S., García-Mena, J., & Hernández-Guerrero, C.

- (2019). Gut microbiota and predicted metabolic pathways in a sample of Mexican women affected by obesity and obesity plus metabolic syndrome. *Int J Mol Sci*, 20(2), 438. doi: 10.3390/ijms20020438
- Coelho, O. G. L., Cândido, F. G., & Alfenas, R. C. G. (2019). Dietary fat and gut microbiota: mechanisms involved in obesity control. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 59(19), 3045-3053. doi:10.1080/10408398.2018.1481821
- Crovesy, L., Masterson, D., & Rosado, E. L. (2020). Profile of the gut microbiota of adults with obesity: a systematic review. *Eur J Clin Nutr*, 74(9), 1251-1262. doi:10.1038/s41430-020-0607-6
- Cuevas-Sierra, A., Ramos-Lopez, O., Riezu-Boj, J. I., Milagro, F. I., & Martinez, J. A. (2019). Diet, gut microbiota, and obesity: Links with host genetics and epigenetics and potential applications. *Adv Nut*, 10(suppl_1), S17-S30. doi:10.1093/advances/nmy078
- Danneskiold-Samsøe, N. B., Barros, H. D. d. F. Q., Santos, R., Bicas, J. L., Cazarin, C. B. B., Madsen, L., . . . Júnior, M. R. M. (2019). Interplay between food and gut microbiota in health and disease. *Food Res Int*, 115, 23-31. doi: 10.1016/j.foodres.2018.07.043
- Davin-Regli, A., Lavigne, J.-P., & Pagès, J.-M. (2019). *Enterobacter* spp.: Update on taxonomy, clinical aspects, and emerging antimicrobial resistance. 32(4), e00002-00019. doi:10.1128/CMR.00002-19
- Davis, H. (2018). Can the gastrointestinal microbiota be modulated by dietary fibre to treat obesity? *Ir J Med Sci*, 187(2), 393-402. doi: 10.1007/s11845-017-1686-9
- de Lourdes García-Magaña, M., García, H. S., Bello-Pérez, L. A., Sáyago-Ayerdi, S. G., & de Oca, M. M.-M. (2013). Functional properties and dietary fiber characterization of mango processing by-products (*Mangifera indica* L., cv Ataulfo and Tommy Atkins). *Plant Foods Hum Nutr*, 68(3), 254-258. doi:10.1007/s11130-013-0364-y
- de Sousa, A. S. B., da Silva, M. C. A., Lima, R. P., Meireles, B. R. L. d. A., Cordeiro, A. T. M., Santos, E. F. d. S., . . . Silva, S. d. M. (2021). Phenolic compounds and antioxidant activity as discriminating markers and adding value of mango varieties. *Sci Hort*, 287, 110259. doi:10.1016/j.scienta.2021.110259
- Del Chierico, F., Abbatini, F., Russo, A., Quagliariello, A., Reddel, S., Capoccia, D., . . . Putignani, L. (2018). Gut microbiota markers in obese adolescent and adult patients: Age-dependent differential patterns. *Front Microbiol*, 9, 1210. doi:10.3389/fmicb.2018.01210
- Delzenne, N. M., Neyrinck, A. M., & Cani, P. D. (2011). Modulation of the gut microbiota by nutrients with prebiotic properties: consequences for host health in the context of obesity and metabolic syndrome. *Microb Cell Fact*, 10 Suppl 1(1), S10. doi:10.1186/1475-2859-10-S1-S10
- Den Besten, G., Van Eunen, K., Groen, A. K., Venema, K., Reijngoud, D.-J., & Bakker, B. M. (2013). The role of short-chain fatty acids in the interplay between diet, gut microbiota, and host energy metabolism. *J Lipid Res*, 54(9), 2325-2340. doi: 10.1194/jlr.R036012

- Díaz-Vela, J., Totosaus, A., Cruz-Guerrero, A. E., & de Lourdes Pérez-Chabela, M. (2013). In vitro evaluation of the fermentation of added-value agroindustrial by-products: cactus pear (*Opuntia ficus-indica* L.) peel and pineapple (*Ananas comosus*) peel as functional ingredients. *Int J Food Sci Technol*, 48(7), 1460-1467. doi: 10.1111/ijfs.12113
- DOF. Norma Oficial Mexicana NOM-188-SCFI-2012. Mango Ataulfo del Soconusco, Chiapas (*Mangifera caesia* Jack ex Wall)-especificaciones y métodos de prueba, (2012).
- Domínguez Avila, J. A., Villegas Ochoa, M. A., Alvarez Parrilla, E., Montalvo González, E., & González Aguilar, G. A. (2018). Interactions between four common plant-derived phenolic acids and pectin, and its effect on antioxidant capacity. *J Food Meas Charact*, 12(2), 992-1004. doi:10.1007/s11694-017-9714-z
- Dong, T. S., & Gupta, A. (2019). Influence of early life, diet, and the environment on the microbiome. *Clin Gastroenterol hepatol*, 17(2), 231-242. doi:10.1016/j.cgh.2018.08.067
- Dreher, M. L. (2018). Whole fruits and fruit fiber emerging health effects. *Nutrients*, 10(12), 1833. doi: 10.3390/nu10121833
- Du, L., Lei, X., Wang, J., Wang, L., Zhong, Q., Fang, X., . . . Liao, Z. (2022). Lipopolysaccharides derived from gram-negative bacterial pool of human gut microbiota promote inflammation and obesity development. *Int Rev Immunol*, 41(1), 45-56. doi:10.1080/08830185.2021.1996573
- Ejtahed, H. S., Soroush, A. R., Siadat, S. D., Hoseini-Tavassol, Z., Larijani, B., & Hasani-Ranjbar, S. (2019). Targeting obesity management through gut microbiota modulation by herbal products: A systematic review. *Complement Ther Med*, 42, 184-204. doi:10.1016/j.ctim.2018.11.019
- Elizondo-Montemayor, L., Hernández-Brenes, C., Ramos-Parra, P. A., Moreno-Sánchez, D., Nieblas, B., Rosas-Pérez, A. M., & Lamadrid-Zertuche, A. C. (2015). High hydrostatic pressure processing reduces the glycemic index of fresh mango puree in healthy subjects. *Food & Funct*, 6(4), 1352-1360. doi:10.1039/c4fo01005a
- Engin, A. (2017). The definition and prevalence of obesity and metabolic syndrome. *Obesity and Lipotoxicity*, 1-17. doi: 10.1007/978-3-319-48382-5_1
- ENSANUT. (2018). Encuesta Nacional de Salud y Nutrición . Cifras de Sobrepeso y Obesidad en México- ENSANUT MC 2018.
- Etxeberria, U., Milagro, F. I., González-Navarro, C. J., & Martínez, J. A. (2016). Papel en la obesidad de la microbiota intestinal. *Anales de la Real Academia Nacional de Farmacia*, 82.
- European Commission. ((n.d)). Nutrition claims. Retrieved from https://ec.europa.eu/food/safety/labelling-and-nutrition/nutrition-and-health-claims/nutrition-claims_en
- Evans, S. F., Meister, M., Mahmood, M., Eldoumi, H., Peterson, S., Perkins-Veazie, P., . . . Lucas, E. A. (2014). Mango supplementation improves

- blood glucose in obese individuals. *Nutrition and metabolic insights*, 7, 77-84. doi:10.4137/NMI.S17028
- Fang, C., Kim, H., Barnes, R. C., Talcott, S. T., & Mertens-Talcott, S. U. (2018). Obesity-associated diseases biomarkers are differently modulated in lean and obese individuals and inversely correlated to plasma polyphenolic metabolites after 6 weeks of mango (*Mangifera indica* L.) consumption. *Mol Nutr Food Res*, e1800129. doi:10.1002/mnfr.201800129
- FAO. (2019). Major tropical fruits—Statistical compendium 2017.
- Fei, N., Bruneau, A., Zhang, X., Wang, R., Wang, J., Rabot, S., . . . Zhao, L. (2020). Endotoxin producers overgrowing in human gut microbiota as the causative agents for nonalcoholic fatty liver disease. *mBio*, 11(1), e03263-19. doi:10.1128/mBio.03263-19
- Fei, N., & Zhao, L. (2013). An opportunistic pathogen isolated from the gut of an obese human causes obesity in germfree mice. *Isme J*, 7(4), 880-884. doi:10.1038/ismej.2012.153
- Fernandez-Navarro, T., Salazar, N., Gutierrez-Diaz, I., de los Reyes-Gavilan, C. G., Gueimonde, M., & Gonzalez, S. (2017). Different intestinal microbial profile in over-weight and obese subjects consuming a diet with low content of fiber and antioxidants. *Nutrients*, 9(6), 551. doi:10.3390/nu9060551
- Fontané, L., Benaiges, D., Goday, A., Llauradó, G., & Pedro-Botet, J. (2018). Influencia de la microbiota y de los probióticos en la obesidad. *Clínica e Investigación en Arteriosclerosis*, 30(6), 271-279. doi:10.1016/j.arteri.2018.03.004
- Fuke, N., Nagata, N., Suganuma, H., & Ota, T. (2019). Regulation of gut microbiota and metabolic endotoxemia with dietary factors. *Nutrients*, 11(10), 2277. doi: 10.3390/nu11102277
- Geerlings, S. Y., Kostopoulos, I., De Vos, W. M., & Belzer, C. (2018). *Akkermansia muciniphila* in the human gastrointestinal tract: when, where, and how? *Microorganisms*, 6(3), 75. doi: 10.3390/microorganisms6030075
- Gérard, C., & Vidal, H. (2019). Impact of gut microbiota on host glycemic control. *Frontiers in Endocrinology*, 10(29). doi:10.3389/fendo.2019.00029
- Geurts, L., Neyrinck, A. M., Delzenne, N. M., Knauf, C., & Cani, P. D. (2014). Gut microbiota controls adipose tissue expansion, gut barrier and glucose metabolism: novel insights into molecular targets and interventions using prebiotics. *Beneficial Microbes*, 5(1), 3-17. doi:10.3920/Bm2012.0065
- Gibson, G. R., Hutkins, R., Sanders, M. E., Prescott, S. L., Reimer, R. A., Salminen, S. J., . . . Reid, G. (2017). Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. *Nature*

- Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 14(8), 491-502.
doi:10.1038/nrgastro.2017.75
- Gill, S. R., Pop, M., Deboy, R. T., Eckburg, P. B., Turnbaugh, P. J., Samuel, B. S., . . . Nelson, K. E. (2006). Metagenomic analysis of the human distal gut microbiome. *Science*, 312(5778), 1355-1359.
doi:10.1126/science.1124234
- Gomes-Araújo, R., Martínez-Vázquez, D. G., Charles-Rodríguez, A. V., Rangel-Ortega, S., & Robledo-Olivo, A. (2021). Bioactive compounds from agricultural residues, their obtaining techniques, and the antimicrobial effect as postharvest additives. *International Journal of Food Science*, 2021, 9936722. doi:10.1155/2021/9936722
- González-López, I., Medrano-Félix, J. A., Castro-Del Campo, N., López-Cuevas, O., Ibarra Rodríguez, J. R., Martínez-Rodríguez, C., . . . Chaidez, C. (2021). Metabolic plasticity of *Salmonella enterica* as adaptation strategy in river water. *Int J Environ Health Res*, 1-13.
doi:10.1080/09603123.2021.1896682
- Grigorova, E. V., Belkova, N. L., Nemchenko, U. M., Klimenko, E. S., Pogodina, A. V., Romanitsa, A. I., . . . Rychkova, L. V. (2021). Metasequencing of V3-V4 variable regions of 16S rRNA gene in opportunistic microbiota and gut biocenosis in obese adolescents. *Bull Exp Biol Med*, 170(3), 321-325. doi:10.1007/s10517-021-05060-3
- Guarner, F. (2016). *Cuando la microbiota intestinal pierde su equilibrio*. Paper presented at the Gut Microbiota for Health World Summit 2016, Miami.
- Guilmeau, S., Ducroc, R., & Bado, A. (2006). Leptin and the gastrointestinal tract. In *Handbook of Biologically Active Peptides* (pp. 1071-1076): Elsevier.
- Hernández-Maldonado, L. M., Blancas-Benítez, F. J., Zamora-Gasga, V. M., Cárdenas-Castro, A. P., Tovar, J., & Sáyago-Ayerdi, S. G. (2019). *In vitro* gastrointestinal digestion and colonic fermentation of high dietary fiber and antioxidant-rich mango (*Mangifera indica* L.) "Ataulfo"-based fruit bars. *Nutrients*, 11(7), 1564. doi:10.3390/nu11071564
- Hiel, S., Bindels, L. B., Pachikian, B. D., Kalala, G., Broers, V., Zamariola, G., . . . Delzenne, N. M. (2019). Effects of a diet based on inulin-rich vegetables on gut health and nutritional behavior in healthy humans. *Am J Clin Nutr*, 109(6), 1683-1695. doi:10.1093/ajcn/nqz001
- Holscher, H. D. (2017). Dietary fiber and prebiotics and the gastrointestinal microbiota. *Gut Microbes*, 8(2), 172-184.
doi:10.1080/19490976.2017.1290756
- Hormaeche, E., & Edwards, P. R. (1960). A proposed genus *Enterobacter*. *International Bulletin of Bacteriological Nomenclature and Taxonomy*, 10(2), 71-74. doi:10.1099/0096266X-10-2-71
- IMPI. Declaratoria General de Protección de la Denominación de Origen MANGO ATAULFO DEL SOCONUSCO CHIAPAS (2003).

- Jahan, K., Qadri, O. S., & Younis, K. (2020). Dietary fiber as a functional food. In S. Ahmad & N. A. Al-Shabib (Eds.), *Functional Food Products and Sustainable Health* (pp. 155-167). Singapore: Springer Singapore.
- Jefferson, A., & Adolphus, K. (2019). The effects of intact cereal grain fibers, including wheat bran on the gut microbiota composition of healthy adults: A Systematic Review. *Front Nutr*, 6, 33. doi:10.3389/fnut.2019.00033
- Jovanovic-Malinovska, R., Kuzmanova, S., & Winkelhausen, E. (2014). Oligosaccharide profile in fruits and vegetables as sources of prebiotics and functional foods. *Int J Food Prop*, 17(5), 949-965. doi:10.1080/10942912.2012.680221
- Kamada, N., Seo, S. U., Chen, G. Y., & Nuñez, G. (2013). Role of the gut microbiota in immunity and inflammatory disease. *Nat Rev Immunol*, 13(5), 321-335. doi:10.1038/nri3430
- Keskitalo, A., Munukka, E., Toivonen, R., Hollmen, M., Kainulainen, H., Huovinen, P., . . . Pekkala, S. (2018). *Enterobacter cloacae* administration induces hepatic damage and subcutaneous fat accumulation in high-fat diet fed mice. *PLOS ONE*, 13(5), e0198262. doi:10.1371/journal.pone.0198262
- Khangwal, I., & Shukla, P. (2019). Potential prebiotics and their transmission mechanisms: Recent approaches. *J Food Drug Anal*, 27(3), 649-656. doi:10.1016/j.jfda.2019.02.003
- Koliada, A., Syzenko, G., Moseiko, V., Budovska, L., Puchkov, K., Perederiy, V., . . . Tkach, S. (2017). Association between body mass index and Firmicutes/Bacteroidetes ratio in an adult Ukrainian population. *BMC Microbiol*, 17(1), 120. doi: 10.1186/s12866-017-1027-1
- Kolodziejczyk, A. A., Zheng, D., & Elinav, E. (2019). Diet–microbiota interactions and personalized nutrition. *Nat Rev Microbiol*, 17(12), 742-753. doi:10.1038/s41579-019-0256-8
- Koner, S., Chen, J.-S., Hsu, B.-M., Tan, C.-W., Fan, C.-W., Chen, T.-H., . . . Nagarajan, V. (2021). Assessment of carbon substrate catabolism pattern and functional metabolic pathway for microbiota of limestone caves. *Microorganisms*, 9(8), 1789. doi: 10.3390/microorganisms9081789
- Krautkramer, K. A., Fan, J., & Bäckhed, F. (2021). Gut microbial metabolites as multi-kingdom intermediates. *Nat Rev Microbiol*, 19(2), 77-94. doi:10.1038/s41579-020-0438-4
- Kumar Singh, A., Cabral, C., Kumar, R., Ganguly, R., Kumar Rana, H., Gupta, A., . . . Pandey, A. K. (2019). Beneficial effects of dietary polyphenols on gut microbiota and strategies to improve delivery efficiency. *Nutrients*, 11(9), 2216. doi:10.3390/nu11092216
- Leguizamon-Delgado, M. A., Duque-Cifuentes, A. L., & Quintero-Castaño, V. D. (2019). Physico-chemical and sensory evaluation of a mango-based fruit bar. *DYNA*, 86, 276-283. doi:10.15446/dyna.v86n210.72950

- Li, D., Kim, J. M., Jin, Z., & Zhou, J. (2008). Prebiotic effectiveness of inulin extracted from edible burdock. *Anaerobe*, 14(1), 29-34. doi:10.1016/j.anaerobe.2007.10.002
- Lima, M. C., Paiva de Sousa, C., Fernandez-Prada, C., Harel, J., Dubreuil, J. D., & de Souza, E. L. (2019). A review of the current evidence of fruit phenolic compounds as potential antimicrobials against pathogenic bacteria. *Microb Pathog*, 130, 259-270. doi:10.1016/j.micpath.2019.03.025
- Liu, W.-Y., Wong, C.-F., Chung, K. M.-K., Jiang, J.-W., & Leung, F. C.-C. (2013). Comparative genome analysis of *Enterobacter cloacae*. *PLOS ONE*, 8(9), e74487. doi:10.1371/journal.pone.0074487
- Lobo, F. C. M., Franco, A. R., Fernandes, E. M., & Reis, R. L. (2021). An Overview of the Antimicrobial Properties of Lignocellulosic Materials. *Molecules*, 26(6), 1749. doi:10.3390/molecules26061749
- Luo, J., Lin, X., Bordiga, M., Brennan, C., & Xu, B. (2021). Manipulating effects of fruits and vegetables on gut microbiota – A critical review. *Int J Food Sci Technol*, 56(5), 2055-2067. doi:10.1111/ijfs.14927
- Ma, N., & Ma, X. (2018). Dietary amino acids and the gut-microbiome-immune axis: Physiological metabolism and therapeutic prospects. *Compr Rev Food Sci Food Saf*, 18. doi:10.1111/1541-4337.12401
- Macfarlane, G. T., & Macfarlane, S. (2019). Bacteria, colonic fermentation, and gastrointestinal health. *J AOAC Int*, 95(1), 50-60. doi:10.5740/jaoacint.SGE_Macfarlane
- Makki, K., Deehan, E. C., Walter, J., & Bäckhed, F. (2018). The impact of dietary fiber on gut microbiota in host health and disease. *Cell Host & Microbe*, 23(6), 705-715. doi:10.1016/j.chom.2018.05.012
- Maldonado-Astudillo, Y. I., Navarrete-García, H. A., Ortiz-Morales, Ó. D., Jiménez-Hernández, J., Salazar-López, R., Alia-Tejagal, I., & Álvarez-Fitz, P. (2016). Propiedades físicas, químicas y antioxidantes de variedades de mango crecidas en la costa de Guerrero. *Rev Fitotec Mex*, 39, 207-214.
- Maldonado-Celis, M. E., Yahia, E. M., Bedoya, R., Landázuri, P., Loango, N., Aguillón, J., . . . Guerrero Ospina, J. C. (2019). Chemical composition of mango (*Mangifera indica* L.) fruit: Nutritional and phytochemical compounds. *Front Plant Sci*, 10, 1073-1073. doi:10.3389/fpls.2019.01073
- Malesza, I. J., Malesza, M., Walkowiak, J., Mussin, N., Walkowiak, D., Aringazina, R., . . . Mądry, E. (2021). High-fat, western-style diet, systemic inflammation, and gut microbiota: A narrative review. *Cells*, 10(11). doi:10.3390/cells10113164
- Manthey, J. A., & Perkins-Veazie, P. (2009). Influences of harvest date and location on the levels of beta-carotene, ascorbic acid, total phenols, the *in vitro* antioxidant capacity, and phenolic profiles of five commercial varieties of mango (*Mangifera indica* L.). *J Agric Food Chem*, 57(22), 10825-10830. doi:10.1021/jf902606h

- Marçal, S., & Pintado, M. (2021). Mango peels as food ingredient / additive: nutritional value, processing, safety and applications. *Trends Food Sci Technol*, 114, 472-489. doi:10.1016/j.tifs.2021.06.012
- Massier, L., Blüher, M., Kovacs, P., & Chakaroun, R. M. (2021). Impaired intestinal barrier and tissue bacteria: Pathomechanisms for metabolic diseases. *Front Endocrinol*, 12. doi:10.3389/fendo.2021.616506
- Mayo-Mayo, G., Navarrete-García, A., Maldonado-Astudillo, Y. I., Jiménez-Hernández, J., Santiago-Ramos, D., Arámbula-Villa, G., . . . Salazar, R. (2020). Addition of roselle and mango peel powder in tortilla chips: a strategy for increasing their functionality. *J Food Meas Charact*, 14(3), 1511-1519. doi:10.1007/s11694-020-00400-9
- McDonald, J. A. K. (2017). *In vitro* models of the human microbiota and microbiome. *Emerg Top Life Sci*, 1(4), 373-384. doi:10.1042/etls20170045
- Medina-Rendon, E. A., Guatemala-Morales, G. M., Padilla-Camberos, E., Corona-González, R. I., Arriola-Guevara, E., & García-Fajardo, J. A. (2021). Production of extrudate food with mango by-products (*Mangifera indica*): Analysis of physical, chemical, and sensorial properties. *Processes*, 9(9), 1660. doi:10.3390/pr9091660
- Megazyme. Sucrose, D-fructose y D-glucose. Assay procedure (KSFRG 03/11). Megazyme International Ireland Limited 2005.
- Mills, S., Stanton, C., Lane, J. A., Smith, G. J., & Ross, R. P. (2019). Precision nutrition and the microbiome, Part I: Current state of the science. *Nutrients*, 11(4), 923. doi:10.3390/nu11040923
- Moles, L., & Otaegui, D. (2020). The impact of diet on microbiota evolution and human health. Is diet an adequate tool for microbiota modulation? *Nutrients*, 12(6), 1654. doi:10.3390/nu12061654
- Moreno-Indias, I., Sánchez-Alcoholado, L., Pérez-Martínez, P., Andrés-Lacueva, C., Cardona, F., Tinahones, F., & Queipo-Ortuño, M. I. (2016). Red wine polyphenols modulate fecal microbiota and reduce markers of the metabolic syndrome in obese patients. *Food Function*, 7(4), 1775-1787. doi:10.1039/c5fo00886g
- Mujico, J. R., Baccan, G. C., Gheorghe, A., Díaz, L. E., & Marcos, A. (2013). Changes in gut microbiota due to supplemented fatty acids in diet-induced obese mice. *Br J Nutr*, 110(4), 711-720. doi:10.1017/s0007114512005612
- Müller, M., Canfora, E. E., & Blaak, E. E. (2018). Gastrointestinal transit time, glucose homeostasis and metabolic health: Modulation by dietary fibers. *Nutrients*, 10(3), 275. doi:10.3390/nu10030275
- Munyendo, L. M., Njoroge, D. M., Owaga, E. E., & Mugendi, B. (2021). Coffee phytochemicals and post-harvest handling—A complex and delicate balance. *J Food Compos Anal*, 102, 103995. doi:10.1016/j.jfca.2021.103995
- Ojo, B., El-Rassi, G. D., Payton, M. E., Perkins-Veazie, P., Clarke, S., Smith, B. J., & Lucas, E. A. (2016). Mango supplementation modulates gut

- microbial dysbiosis and short-chain fatty acid production independent of body weight reduction in C57BL/6 mice fed a high-fat diet. *J Nutr*, 146(8), 1483-1491. doi:10.3945/jn.115.226688
- OMENT. (2016). Cifras de sobrepeso y obesidad en México-ENSANUT MC. Recuperado de <https://oment.uanl.mx/cifras-de-sobrepeso-y-obesidad-en-mexico-ensanut-mc-2016/>
- OMS. (2020). Obesity and overweight: Fact sheet N°311. Recuperado de <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>
- Pacheco-Ordaz, R., Wall-Medrano, A., Goñi, M. G., Ramos-Clamont-Montfort, G., Ayala-Zavala, J. F., & González-Aguilar, G. A. (2018). Effect of phenolic compounds on the growth of selected probiotic and pathogenic bacteria. *Lett Appl Microbiol*, 66(1), 25-31. doi:10.1111/lam.12814
- Papadimitriou, K., Zoumpopoulou, G., Foligné, B., Alexandraki, V., Kazou, M., Pot, B., & Tsakalidou, E. (2015). Discovering probiotic microorganisms: *in vitro*, *in vivo*, genetic and omics approaches. *Front Microbiol*, 6, 58-58. doi:10.3389/fmicb.2015.00058
- Parker, B. J., Wearsch, P. A., Veloo, A. C. M., & Rodriguez-Palacios, A. (2020). The genus *Alistipes*: Gut bacteria with emerging implications to inflammation, cancer, and mental health. *Front Immunol*, 11(906). doi:10.3389/fimmu.2020.00906
- Patiño-Rodríguez, O., Bello-Pérez, L. A., Agama-Acevedo, E., & Pacheco-Vargas, G. (2020). Pulp and peel of unripe stenopermocarptic mango (*Mangifera indica* L. cv Ataulfo) as an alternative source of starch, polyphenols and dietary fibre. *Food Res Int*, 138, 109719. doi:10.1016/j.foodres.2020.109719
- Pérez-Chabela, M., Cebollón-Juárez, A., Bosquez-Molina, E., & Totosaus, A. (2021). Mango peel flour and potato peel flour as bioactive ingredients in the formulation of functional yogurt. *Food Sci Technol*. doi:10.1590/fst.38220
- Peters, B. A., Shapiro, J. A., Church, T. R., Miller, G., Trinh-Shevrin, C., Yuen, E., . . . Ahn, J. (2018). A taxonomic signature of obesity in a large study of American adults. *Sci Rep*, 8(1), 9749. doi:10.1038/s41598-018-28126-1
- Quin, C., & Gibson, D. L. (2020). Human behavior, not race or geography, is the strongest predictor of microbial succession in the gut bacteriome of infants. *Gut Microbes*, 11(5), 1143-1171. doi:10.1080/19490976.2020.1736973
- Quirós-Sauceda, A. E., Sañudo-Barajas, J. A., Vélez-de la Rocha, R., Domínguez-Avila, J. A., Ayala-Zavala, J. F., Villegas-Ochoa, M. A., & González-Aguilar, G. A. (2019). Effects of ripening on the *in vitro* antioxidant capacity and bioaccessibility of mango cv. 'Ataulfo' phenolics. *J Food Sci Technol*, 56(4), 2073-2082. doi:10.1007/s13197-019-03685-x

- Rinninella, E., Cintoni, M., Raoul, P., Lopetuso, L. R., Scaldaferri, F., Pulcini, G., . . . Mele, M. C. (2019). Food components and dietary habits: Keys for a healthy gut microbiota composition. *Nutrients*, *11*(10), 2393. doi:10.3390/nu11102393.
- Rinninella, E., Raoul, P., Cintoni, M., Franceschi, F., Miggiano, G. A. D., Gasbarrini, A., & Mele, M. C. (2019). What is the healthy gut microbiota composition? A changing ecosystem across age, environment, diet, and diseases. *Microorganisms*, *7*(1), 14. doi:10.3390/microorganisms7010014
- Riva, A., Borgo, F., Lassandro, C., Verduci, E., Morace, G., Borghi, E., & Berry, D. (2017). Pediatric obesity is associated with an altered gut microbiota and discordant shifts in Firmicutes populations. *Environ Microbiol*, *19*(1), 95-105. doi:10.1111/1462-2920.13463
- Robles-Sánchez, M., Astiazarán-García, H., Martín-Belloso, O., Gorinstein, S., Alvarez-Parrilla, E., Laura, A., . . . González-Aguilar, G. A. (2011). Influence of whole and fresh-cut mango intake on plasma lipids and antioxidant capacity of healthy adults. *Food Res Int*, *62*(14), 1386-1391. doi:10.1016/j.foodres.2011.01.052
- Rojas, R., Alvarez-Pérez, O. B., Contreras-Esquivel, J. C., Vicente, A., Flores, A., Sandoval, J., & Aguilar, C. N. (2020). Valorisation of mango peels: Extraction of pectin and antioxidant and antifungal polyphenols. *Waste and Biomass Valorization*, *11*(1), 89-98. doi:10.1007/s12649-018-0433-4
- Rojas, R., Contreras-Esquivel, J. C., Orozco-Esquivel, M. T., Muñoz, C., Aguirre-Joya, J. A., & Aguilar, C. N. (2015). Mango peel as source of antioxidants and pectin: Microwave assisted extraction. *Waste and Biomass Valorization*, *6*(6), 1095-1102. doi:10.1007/s12649-015-9401-4
- Roongpisuthipong, C., Banphotkasem, S., Komindr, S., & Tanphaichitr, V. (1991). Postprandial glucose and insulin responses to various tropical fruits of equivalent carbohydrate content in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract*, *14*(2), 123-131. doi:10.1016/0168-8227(91)90118-w
- Rothschild, D., Weissbrod, O., Barkan, E., Kurilshikov, A., Korem, T., Zeevi, D., . . . Segal, E. (2018). Environment dominates over host genetics in shaping human gut microbiota. *Nature*, *555*(7695), 210-215. doi:10.1038/nature25973
- Saltiel, A. R., & Olefsky, J. M. (2017). Inflammatory mechanisms linking obesity and metabolic disease. *J Clin Invest*, *127*(1), 1-4. doi:10.1172/JC192035
- Sáyago-Ayerdi, S. G., Zamora-Gasga, V. M., & Venema, K. (2019). Prebiotic effect of predigested mango peel on gut microbiota assessed in a dynamic in vitro model of the human colon (TIM-2). *Food Res Int*, *118*, 89-95. doi:10.1016/j.foodres.2017.12.024

- Seganfredo, F., Blume, C., Moehlecke, M., Giongo, A., Casagrande, D., Spolidoro, J., . . . Mottin, C. (2017). Weight-loss interventions and gut microbiota changes in overweight and obese patients: a systematic review. *Obes Rev*, *18*(8), 832-851. doi:10.1111/obr.12541
- Sender, R., Fuchs, S., & Milo, R. (2016). Revised estimates for the number of human and bacteria cells in the body. *PLOS Biol*, *14*(8), e1002533. doi:10.1371/journal.pbio.1002533
- Shukri, R., Wan Ibadullah, W. Z., Ramli, N., Z.A, N., & Ismail-Fitry, M. R. (2019). Physicochemical, cooking quality and sensory characterization of yellow alkaline noodle: impact of mango peel powder level. *Food Res*, *4*, 70-76. doi:10.26656/fr.2017.4(1).170
- SIAP. (2020). *Panorama Agroalimentario 2020*. Ciudad de México: Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera Retrieved from <https://www.inforural.com.mx/wp-content/uploads/2020/11/Atlas-Agroalimentario-2020.pdf>
- Siddiq, M., Brecht, J. K., & Sidhu, J. S. (2017). *Handbook of mango fruit: Production, postharvest science, processing technology and nutrition*. John Wiley & Sons.
- Silva, F., & Martínez O., T. P. (2018). Complejo *Enterobacter cloacae*. *Rev Chil Infectol*, *35*, 297-298. doi:10.4067/s0716-10182018000300297
- Simões, C. D., Maukonen, J., Kaprio, J., Rissanen, A., Pietiläinen, K. H., & Saarela, M. (2013). Habitual dietary intake is associated with stool microbiota composition in monozygotic twins. *J Nutr*, *143*(4), 417-423. doi:10.3945/jn.112.166322
- Singh, R. K., Chang, H.-W., Yan, D., Lee, K. M., Ucmak, D., Wong, K., . . . Liao, W. (2017). Influence of diet on the gut microbiome and implications for human health. *J Transl Med*, *15*(1), 73. doi:10.1186/s12967-017-1175y
- So, D., Whelan, K., Rossi, M., Morrison, M., Holtmann, G., Kelly, J. T., . . . Campbell, K. L. (2018). Dietary fiber intervention on gut microbiota composition in healthy adults: a systematic review and meta-analysis. *Am J Clin Nutr*, *107*(6), 965-983. doi:10.1093/ajcn/nqy041
- Swanson, K., De Vos, W., Martens, E., Gilbert, J., Menon, R., Soto-Vaca, A., . . . Vaughan, E. (2020). Effect of fructans, prebiotics and fibres on the human gut microbiome assessed by 16S rRNA-based approaches: A review. *Benef Microbes*, *11*(2), 101-129. doi:10.3920/BM2019.0082
- Świątecka, D., Narbad, A., Ridgway, K. P., & Kostyra, H. (2011). The study on the impact of glycosylated pea proteins on human intestinal bacteria. *Int J Food Microbiol*, *145*(1), 267-272. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2011.01.002
- Tilg, H., Zmora, N., Adolph, T. E., & Elinav, E. (2020). The intestinal microbiota fuelling metabolic inflammation. *Nat Rev Immunol*, *20*(1), 40-54. doi:10.1038/s41577-019-0198-4
- Tomás-Barberán, F. A., Selma, M. V., & Espín, J. C. (2016). Interactions of gut microbiota with dietary polyphenols and consequences to human health. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, *19*(6), 471-476. doi:10.1097/mco.0000000000000314

- Torres-León, C., de Azevedo Ramos, B., dos Santos Correia, M. T., Carneiro-da-Cunha, M. G., Ramirez-Guzman, N., Alves, L. C., . . . Aguilar, C. N. (2021). Antioxidant and anti-staphylococcal activity of polyphenolic-rich extracts from Ataulfo mango seed. *LWT*, *148*, 111653. doi:10.1016/j.lwt.2021.111653
- Torres-León, C., Vicente, A. A., Flores-López, M. L., Rojas, R., Serna-Cock, L., Alvarez-Pérez, O. B., & Aguilar, C. N. (2018). Edible films and coatings based on mango (var. Ataulfo) by-products to improve gas transfer rate of peach. *LWT*, *97*, 624-631. doi:10.1016/j.lwt.2018.07.057
- Tremmel, M., Gerdtham, U. G., Nilsson, P. M., & Saha, S. (2017). Economic burden of obesity: A systematic literature review. *Int J Environ Res Public Health*, *14*(4), 435. doi:10.3390/ijerph14040435
- Triantis, V., Bode, L., & van Neerven, R. J. J. (2018). Immunological effects of human milk oligosaccharides. *Front Pediatr*, *6*(190). doi:10.3389/fped.2018.00190
- Turnbaugh, P. J., Hamady, M., Yatsunencko, T., Cantarel, B. L., Duncan, A., Ley, R. E., . . . Affourtit, J. P. (2009). A core gut microbiome in obese and lean twins. *Nature*, *457*(7228), 480-484. doi: 10.1038/nature07540
- Turroni, F., Milani, C., Duranti, S., Mahony, J., van Sinderen, D., & Ventura, M. (2018). Glycan utilization and cross-feeding activities by bifidobacteria. *Trends in Microbiol*, *26*(4), 339-350. doi:10.1016/j.tim.2017.10.001.
- Usuda, H., Okamoto, T., & Wada, K. (2021). Leaky gut: Effect of dietary fiber and fats on microbiome and intestinal barrier. *Int J Mol Sci*, *22*(14). doi:10.3390/ijms22147613
- van de Wouw, M., Schellekens, H., Dinan, T. G., & Cryan, J. F. (2017). Microbiota-Gut-Brain Axis: Modulator of Host Metabolism and Appetite. *J Nutr*, *147*(5), 727-745. doi:10.3945/jn.116.240481
- Velez de la Rocha, R., Baldenebro-Ojeda, K., Sañudo-Barajas, J.A., & Vergara-Jiménez, M. (2021). Fully ripe "Ataulfo" mango (*Mangifera indica* L) peel, pulp and isolated fiber: Sources of bioactive components against metabolic syndrome. *CDN*, *5*(Supplement_2), 611-611. doi:10.1093/cdn/nzab044_042
- Verduzco-Oliva, R., & Gutierrez-Urbe, J. A. (2020). Beyond enzyme production: Solid state fermentation (SSF) as an alternative approach to produce antioxidant polysaccharides. *Sustainability*, *12*(2), 495. doi: 10.3390/su12020495
- Vicenssuto, G. M., & de Castro, R. J. S. (2020). Development of a novel probiotic milk product with enhanced antioxidant properties using mango peel as a fermentation substrate. *Biocatal Agric Biotechnol*, *24*, 101564. doi:10.1016/j.bcab.2020.101564
- Vieira, A. D. S., Bedani, R., Albuquerque, M. A. C., Biscola, V., & Saad, S. M. I. (2017). The impact of fruit and soybean by-products and amaranth on the growth of probiotic and starter microorganisms. *Food Res Int*, *97*, 356-363. doi:10.1016/j.foodres.2017.04.026

- Wall-Medrano, A., Olivas-Aguirre, F. J., Ayala-Zavala, J. F., Domínguez-Avila, J. A., Gonzalez-Aguilar, G. A., Herrera-Cazares, L. A., & Gaytan-Martinez, M. (2020). Health Benefits of Mango By-products. In *Food Wastes and By-Products* (pp. 159-191).
- Wang, C., & Zhuang, W.-Y. (2020). Carbon metabolic profiling of *Trichoderma* strains provides insight into potential ecological niches. *Mycologia*, *112*(2), 213-223. doi:10.1080/00275514.2019.1698246
- Wang, T., Goyal, A., Dubinkina, V., & Maslov, S. (2019). Evidence for a multi-level trophic organization of the human gut microbiome. *PLOS Computational Biology*, *15*(12), e1007524. doi:10.1371/journal.pcbi.1007524
- Wang, Y., Ames, N. P., Tun, H. M., Tosh, S. M., Jones, P. J., & Khafipour, E. (2016). High molecular weight barley β -glucan alters gut microbiota toward reduced cardiovascular disease risk. *Front Microbiol*, *7*. doi:10.3389/fmicb.2016.00129
- Wolters, M., Ahrens, J., Romaní-Pérez, M., Watkins, C., Sanz, Y., Benítez-Páez, A., . . . Günther, K. (2019). Dietary fat, the gut microbiota, and metabolic health - A systematic review conducted within the MyNewGut project. *Clin Nutr*, *38*(6), 2504-2520. doi:10.1016/j.clnu.2018.12.024
- Yan, H., Fei, N., Wu, G., Zhang, C., Zhao, L., & Zhang, M. (2016). Regulated inflammation and lipid metabolism in colon mRNA expressions of obese germfree mice responding to *Enterobacter cloacae* B29 combined with the high fat diet. *Front Microbiol*, *7*(1786). doi:10.3389/fmicb.2016.01786
- Yang, C. S., Wang, H., & Sheridan, Z. P. (2018). Studies on prevention of obesity, metabolic syndrome, diabetes, cardiovascular diseases and cancer by tea. *J Food Drug Anal*, *26*(1), 1-13. doi:10.1016/j.jfda.2017.10.010
- Yang, Q., Liang, Q., Balakrishnan, B., Belobrajdic, D. P., Feng, Q.-J., & Zhang, W. (2020). Role of dietary nutrients in the modulation of gut microbiota: A narrative review. *Nutrients*, *12*(2), 381.
- Zdunek, A., Pieczywek, P. M., & Cybulska, J. (2021). The primary, secondary, and structures of higher levels of pectin polysaccharides. *Compr Rev Food Sci Food Saf*, *20*(1), 1101-1117. doi:10.1111/1541-4337.12689
- Zepeda-Ruiz, G. C., Domínguez-Avila, J. A., Ayala-Zavala, J. F., Robles-Sánchez, M., Salazar-López, N. J., López-Díaz, J. A., & González-Aguilar, G. A. (2020). Supplementing corn chips with mango cv. "Ataulfo" peel improves their sensory acceptability and phenolic profile, and decreases in vitro dialyzed glucose. *J Food Process Preserv*, *44*(12), e14954. doi:https://doi.org/10.1111/jfpp.14954
- Zhang, C., Zhang, M., Pang, X., Zhao, Y., Wang, L., & Zhao, L. (2012). Structural resilience of the gut microbiota in adult mice under high-fat dietary perturbations. *ISME J*, *6*(10), 1848-1857. doi:10.1038/ismej.2012.27

- Zhang, S., Hu, H., Wang, L., Liu, F., & Pan, S. (2018). Preparation and prebiotic potential of pectin oligosaccharides obtained from citrus peel pectin. *Food Chem*, *244*, 232-237. doi:10.1016/j.foodchem.2017.10.071
- Zinöcker, M. K., & Lindseth, I. A. (2018). The western diet–microbiome–host interaction and its role in metabolic disease. *Nutrients*, *10*(3), 365. doi:10.3390/nu10030365

ANEXOS

Anexo 1. Constancia de estancia académica en el Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A. C. Coordinación Culiacán.



GOBIERNO DE
MÉXICO



CONACYT
Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología



Centro de Investigación
en Alimentación y Desarrollo

Coordinación Regional Culiacán

Culiacán, Sinaloa, México; 25 de octubre de 2021

CIAD/DUC/CD/054/21

ASUNTO: Constancia de Estancia Académica

A QUIEN CORRESPONDA:

Por este conducto hacemos constar que la C. **Kirenia Baldenebro Ojeda**, Estudiante de la Maestría en Ciencias de la Nutrición y Alimentos Medicinales de la Universidad Autónoma de Sinaloa, con número de CVU 967136, ha concluido satisfactoriamente su Estancia Académica de Investigación para el desarrollo de su trabajo de tesis "Efecto de subproductos de mango Ataulfo en la microbiota intestinal relacionada con la obesidad en modelo *in vitro*", en el Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A. C. Coordinación Culiacán, bajo la Dirección de la M.C. Rosabel Vélez de la Rocha, en un periodo comprendido del 24 de enero de 2020 al 22 de octubre de 2021.

Agradeciendo de antemano su atención, me despido quedando a sus órdenes para cualquier información adicional.

Atentamente



Dra. Josefina León-Félix

Responsable de Programas Académicos
CIAD, A. C. Coordinación Culiacán

c.c.p. Archivo

Carretera a Eldorado, km. 5.5, Col. Campo El Diez, C.P. 80110. Culiacán, Sinaloa, México
Tel: 667 480 6950 www.ciad.mx



Anexo 2. Resumen “Fully Ripe “Ataulfo” Mango (*Mangifera indica* L) Peel, Pulp and Isolated Fiber: Sources of Bioactive Components Against Metabolic Syndrome” publicado en la revista Current Developments in Nutrition.



Volume 5, Issue
Supplement_2
June 2021

Article Contents

Abstract

[< Previous](#) [Next >](#)

Fully Ripe “Ataulfo” Mango (*Mangifera indica* L) Peel, Pulp and Isolated Fiber: Sources of Bioactive Components Against Metabolic Syndrome

Rosabel Velez de la Rocha, Kirenia Baldenebro Ojeda, Adriana Sañudo Barajas, Marcela Vergara-Jiménez

Current Developments in Nutrition, Volume 5, Issue Supplement_2, June 2021, Page 611, https://doi.org/10.1093/cdn/nzab044_042

Published: 07 June 2021

[PDF](#) [Split View](#) [Cite](#) [Permissions](#) [Share](#)

Abstract

Objectives

To evaluate the proximal composition of pulp, peel and isolated fiber of fully ripe “Ataulfo” mango, as a potential sources of bioactive components against factors associated with the metabolic syndrome.

Methods

Fully ripe Ataulfo mangos were harvest from Sinaloa, Mexico. Pulp and peels were separated, lyophilized and grounded. Lyophilized peels were washed using a 80% ethanol and acetone solution to obtain isolated fiber. Proximal analysis was performed using the official AOAC methodologies for protein, fat, ash and soluble and insoluble dietary fiber. Glucose, fructose and saccharose were analyzed using enzymatic method. Folin-Ciocalteu assay was used to evaluate total phenolics, total flavonoids were measured by spectrophotometry. Vitamin C and b-carotene were determinated by UV-Vis chromatography. Neutral sugars were measured by alditol acetates method. Data analysis was done using SAS statistic software.

Results

Great differences in the bioactive composition between pulp, peel and isolated fiber were observed. Mango pulp had 71% and 10.1%, while isolated fiber 0.9 and 81% of free sugars and dietary fiber respectively. Mango peel exhibed a balanced free sugar (38%) and fiber quantities (41%), and also the highest amounts of phenolics and total flavonoids, b-carotene and vitamin C. Soluble and insoluble fiber ratio was around 1 in pulp, peel and isolated fiber, which is considered as good quality dietary fiber. Glucose, arabinose and galactose were major neutral sugars, and revealed probable structure type arabinogalactan, b-glucan or arabinan. Mango peel had the most abundant content of dietary fiber, total phenolic and flavonoids, vitamin C and β -carotene, and the lowest amount of free sugars compared to mango pulp. According to the reported literature, our products could have bioactive components against the metabolic syndrome related factors, and even better, mango peel had less free sugars than mango pulp.

Conclusions

Mango peel seems to have the major presence of bioactive compounds compared to mango pulp, After this proximal analysis, mango peel can not longer be considered as a waste product. More studies need be done in order to probe the effectiveness of the bioactive components found in mango peel associated with the control of the most important risk factors related to the metabolic syndrome.

Funding Sources

University of Sinaloa, CIAD.

Anexo 3. Certificado de participación en el “XIX Congreso Latinoamericano de Nutrición 2021” de la Sociedad Latinoamericana de Nutrición (SLAN) en modalidad e-póster del trabajo titulado: “Efecto de subproductos de mango Ataulfo (*Mangifera indica* L) sobre la proliferación de *Enterobacter cloacae* in vitro”, derivado de esta investigación.

slan 2021 **XIX CONGRESO LATINOAMERICANO DE NUTRICIÓN (SLAN)**
31 de octubre al 4 de noviembre, 2021
VIRTUAL
"Desde el Paraguay para Latinoamérica y el mundo"

www.slan2021.com

CERTIFICADO DE COMUNICACIONES

Por la presente, certificamos que el trabajo titulado:

**EFECTO DE SUBPRODUCTOS DE MANGO ATAULFO (*Mangifera indica* L)
SOBRE LA PROLIFERACIÓN DE *Enterobacter cloacae* IN VITRO.**

Ha sido aceptado y presentado en modalidad E-POSTER por:

**LN Kirenia Baldenebro Ojeda
Dr. Cristóbal Chaidez-Quiroz
Dra. J. Adriana Sañudo-Barajas
M.C. Rosabel Vélez-de la Rocha
M.C. Irvin González-López
Dra. Marcela de Jesús Vergara-Jiménez**

En el XIX Congreso Latinoamericano de Nutrición: Congreso Virtual SLAN 2021
celebrado del 31 de octubre al 4 de noviembre de 2021

Wilma Freire
Dra. Wilma Freire
Vicepresidenta SLAN

Ángel Gil
Prof. Ángel Gil
Presidente del Consejo Científico

Rafael Figueredo
Dr. Rafael Figueredo
Presidente del Congreso

Anexo 4. Publicación del resumen titulado: “Efecto de subproductos de mango Ataulfo (*Mangifera indica* L) sobre la proliferación de *Enterobacter cloace* *in vitro*”, derivado de esta investigación en la revista Archivos Latinoamericanos de Nutrición (ALAN).

ALAN ARCHIVOS LATINOAMERICANOS DE NUTRICIÓN

INICIO EDICIONES + COMITÉ EDITORIAL INFORMACIÓN PARA LOS AUTORES NOSOTROS SLAN

Inicio Ediciones **Volumen 71, Suplemento 1**

Comunicaciones e-póster

<https://doi.org/10.37527/2021.71.S1>

PO 171. EFECTO DE SUBPRODUCTOS DE MANGO ATAULFO (*Mangifera indica* L) SOBRE LA PROLIFERACIÓN DE *Enterobacter cloacae* IN VITRO

Kirenia Baldenebro Ojeda¹, Cristóbal Chaidez-Quiroz², J. Adriana Sañudo-Barajas², Rosabel Vélez-de la Rocha², Irvin González-López², Marcela de Jesús Vergara-Jiménez¹.

¹Facultad de Ciencias de la Nutrición y Gastronomía, Culiacán, México, ²Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C, Culiacán, México

Antecedentes y objetivo. La disbiosis en la microbiota intestinal se atribuye al incremento de poblaciones microbianas como *Enterobacter cloacae*, la cual posee lipopolisacáridos altamente proinflamatorios, que, al llegar a circulación sistémica, se asocian al desarrollo de enfermedades por inflamación celular, como síndrome metabólico y obesidad. Consumir frutas ricas en fibra y antioxidantes, como el mango Ataulfo, promueve estados saludables y sana diversidad en la microbiota. Las cáscaras con residuos de pulpa de mango Ataulfo suelen considerarse subproductos de desecho, perdiéndose valiosos nutrimentos con potencial nutricional y prebiótico. Analizar la composición química de subproductos del mango Ataulfo (pulpa, cáscara y fibra aislada de cáscara) y evaluar su efecto sobre la proliferación de *E. cloacae*, en un estudio *in vitro*.

Métodos. Se analizó la composición química de los 3 subproductos de mango y se realizó su predigestión. Se efectuaron pruebas de fermentación con *E. cloacae* utilizando los sustratos predigeridos, pulpa, cáscara y fibra aislada, incluyéndose un control de glucosa. Se procedió a medir la proliferación de la bacteria en estos sustratos durante 72 horas, expresándose los resultados en log UFC/ml.

Resultados. El análisis proximal de estos subproductos arrojó un contenido de fibra total y azúcares libres, de 81 y 0.94% en fibra aislada, 40.4 y 31.66% en cáscara y 10.71 y 73.20% en pulpa, respectivamente. *E. cloacae* presentó un comportamiento similar entre los subproductos, que fue menor al que reportó la glucosa, que logró incrementar hasta 4 log UFC/ml tras 48 horas de fermentación.

Conclusiones. El alto contenido de fibra presente en los subproductos de mango Ataulfo sugiere una mínima acción inhibitoria sobre *E. cloacae* al observarse estabilidad en su crecimiento a diferencia de lo que se reportó en el control glucosa otorgándole valor agregado a estos subproductos con posibles alcances en salud y prevención.

Palabras clave: microbiota, *Enterobacter Cloacae*, obesidad, mango Ataulfo, prebióticos.