



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLÁN**

**Caracterización de la semilla y
cáscara de aguacate variedad Hass
para el desarrollo de una aplicación**

TESIS

Que para obtener el título de

Química

P R E S E N T A

Yanmei King Loeza

ASESORES DE TESIS

Dr. Jorge Antonio Ascencio Gutiérrez

Dra. Jessica del Pilar Ramírez Anaya

Dr. Fernando Ortega Jiménez



**UNAM
CUAUTITLÁN**

Cuautitlán Izcalli, Estado de México, 2018



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Agradecimientos especiales

Quiero agradecer al Presidente del Sistema Producto Aguacate de Jalisco, Sr. Ignacio González, por el apoyo económico y moral que me brindó además de la gran visión que tiene al patrocinar numerosos proyectos de investigación y a todo el equipo del Grupo Agrogonzález, que siempre estuvo dispuesto a darme una mano.

Un agradecimiento especial al equipo del empaque D'Eliseos, por su invaluable colaboración en este proyecto al permitirnos conocer sus instalaciones, operación y proporcionarnos los aguacates que se utilizaron en este estudio, siempre con la mejor disposición y visión a futuro.

Al equipo de APEAJAL A.C por su paciencia y enseñanzas sobre el funcionamiento de las industrias agrícolas, especialmente con el Ing. José Seferino Cortéz por compartir su conocimiento y enseñanzas y al Ing. Ignacio Gómez por brindarme su apoyo.

Agradecimientos

Estoy muy agradecida con mis padres por el fuerte impulso y motivación, ambas personas brillantes y tenaces que espero algún día superar. A mi mamá que siempre procuró apoyarme y ayudarme a alcanzar mis metas aunque fueran tan irrealas.

Con especial cariño a mi abuela que ya no logré ver la culminación de esta etapa, pero que siempre estuvo acompañándome hasta altas horas de la noche, contándome sus fantásticas historias.

Gracias a mi hermana por sus mil preguntas que espero hayan nacido de genuina curiosidad y que siguen perpetuando el amor por la ciencia y el conocimiento en nuestros corazones.

A toda la familia, especialmente a mi padrino Félix que pudo comprender la necesidad del ser humano de tener su propia aventura.

Agradexo al Dr. Jorge Ascencio por su apoyo y ánimos en emprender este proyecto, igualmente a su familia, especialmente a Doña Carmelita que siempre me recibió con los brazos abiertos y me trató con los mayores miramientos.

Muchas gracias a la Dra. Jessica Ramírez por aceptarme en su laboratorio y darme tanto tiempo, muchas gracias por la paciencia y las numerosas enseñanzas que recibí durante mi estadía, sus enseñanzas de valor, generosidad e inteligencia han servido para mejorar la persona que soy.

Quedo agradecida con el Dr. Fernando Ortega por apoyarme en la realización de este proyecto, a la Dra. Selene por sus consejos e ideas.

Gracias a todos los profesores y técnicos de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán por el tiempo y conocimientos compartidos al Sr. Jingles donador de su cuerpo para la experimentación.

De igual forma quedo muy agradecida de los profesores de la Universidad de Guadalajara por su tiempo y disposición para aceptarme en sus instalaciones: al Maestro Dionisio por sus consejos y paciencia de tenerme todo el día.

Agradesco la invaluable ayuda de la Dra. Socorro Villanueva quien me abrió el panorama en cuanto al desarrollo de productos de la agroindustria, también al Maestro Raúl Ferreyra del I.N.I.A en Chile, por sus agradables charlas y explicaciones así como ideas al Dr. Samuel Salazar del I.N.I.F.A.P por compartir su vasto conocimiento en aguacate y otra información valiosa, de igual forma a la Dra. Celia Rodríguez de la UDeG por su comprensión y sus invitaciones.

A aquellos amigos que me recordaron que estaba invirtiendo bien mi tiempo: Adriana, Diana y Pepe, Dany, y Andrés siempre guiándome. Mis nuevos amigos de este lado del país: Gpo. Dennis, Lupita, Meni y Nancy. Gracias a Brenda, Erick y Claudia que metía orden en este caos existencial que trajo la tesis. Gracias a todos los que creyeron que sólo perdía el tiempo, por que pude demostrar que lo que para unos es una pérdida, para otros es ganancia.

A todos gracias por la paciencia el esfuerzo y sobre todo confianza.

*El conocimiento es una llama eterna,
que arde y consume,
como una chispa,
devasta los campos otras veces
es la lux creadora
siempre salvaje,
dispuesta a morderte
y nunca soltarte.*

Gracias Octavio por tu paciencia y ánimos cuando se necesitaba, por tus palabras de cariño, por el esfuerzo ante esta prueba, hemos perdido tanto en el camino, pero al final cada quien vive el destino que construya, que espero esta tesis demuestre que hay cosas por las cuales vale la pena el trabajo y el sacrificio.

A Edgar que, aunque callado, siempre me animó para ser mejor y con su sencillez refrescó mi mente sobrecargada. Para que encuentres el valor.

Índice

Introducción	1
I Objetivos	2
II Justificación	3
III Hipótesis	3
IV Marco teórico	4
4.1 Origen del aguacate	5
4.2 Distribución	6
4.3 Clasificación.....	7
4.4 Descripción	8
4.5 Características del aguacate Hass	9
4.6 Clasificación comercial	9
4.7 Producción nacional y mundial	11
4.8 Lípidos	13
4.8.1 Generalidades	13
4.8.2 Composición lipídica del fruto del aguacate.	14
4.8.3Análisis de lípidos	16
4.9 Radicales libres.....	16
4.9.1 Especies reactivas de oxígeno	18
4.10 Antioxidantes	19
4.10.1 Generalidades y clasificación	19
4.10.2 Fenoles	20
4.10.3 Fenoles en el fruto del aguacate	23
4.10.4 Análisis de fenoles.....	26
4.10.5 Actividad antioxidante	26
4.10.7 Determinación de actividad antioxidante por los métodos ABTS y DPPH.....	27
4.10.8 Evaluación de la capacidad antioxidante	28
4.11 Espectroscopía de Infrarrojo	30
4.12 Generación de residuos agrícolas y alternativas.....	32
V Metodología experimental	35
5.1 Acopio de material vegetal	37
5.2 Preparación de las muestras	38
5.3 Textura	38
5.4 Determinación de humedad	38

5.5 Determinación del contenido de grasa	39
5.6 Estudio de fenoles y actividad antioxidante	40
5.6.1 Preparación de extractos metanólicos.....	40
5.6.2 Determinación de fenoles totales.....	41
5.6.3 Determinación de actividad antioxidante.....	41
5.7 Determinación de espectros infrarrojo.....	43
5.8 Estudio de ácidos grasos	43
5.8.1 Derivatización de ácidos grasos	43
5.8.2 Determinación de perfil de ácidos grasos.....	44
5.9 Análisis estadístico	45
VI Resultados y discusión.....	47
6.1 Textura	48
6.2 Proporción de pulpa, cáscara y semilla.....	48
6.3 Contenido de humedad, materia seca y grasa.....	50
6.4 Determinación de contenido de fenoles totales.....	52
6.5 Actividad antioxidante por el método ABTS	55
6.6 <i>Actividad antioxidante por el método DPPH</i>	56
6.7 Cinética de reacción de radicales.....	57
6.8 Espectros de infrarrojo de extractos metanólicos de cáscara y semilla de aguacate Hass ...	63
6.9 Perfil de ácidos grasos en semilla y cáscara de aguacate	70
6.9.1 Ácidos grasos presentes en cáscara y semilla	70
6.9.2 Ácidos grasos exclusivos de la semilla.....	73
6.9.3 Diferencias entre los perfiles lipídicos de la semilla y la cáscara.	73
6.9.4 Ácidos grasos según el grado de insaturación	78
VII Perspectivas para el desarrollo de una aplicación	82
7.1 Diseño e implementación de una biorefinería.....	83
7.2 Producción de aceite comestible y enriquecimiento del mismo.	83
7.3 Ingrediente funcional	84
7.4 Diseño de una crema antibacterial, con protector solar	85
VIII Conclusiones	86
Prospectivas	87
Bibliografía.....	88

Introducción

El aguacate Hass (*Persea americana Mill*) es una variedad desarrollada a partir de las variedades mexicana y guatemalteca. Es conocido y promovido por ser rico en grasas insaturadas, fibra, vitaminas y carotenoides. Cowan y Wolstenholme (2016) mencionan que éste tiene un alto contenido de potasio y retinol, actualmente y gracias a las técnicas de irrigación es el cultivar predominante en el mundo.

El aguacate es una fuente importante de compuestos biofuncionales, sin embargo, la industria se centra en la comercialización del fruto fresco, mientras que otra parte se destina a la transformación del fruto, descartando la cáscara y semilla como desecho.

Para satisfacer la demanda mundial de frutas y hortalizas frescas se producen grandes volúmenes de alimentos que en su mayoría producen desechos, se estima que al año se producen más de 800 mil toneladas sin contar los residuos que se generan durante el procesamiento, lo que constituye un problema ambiental importante (Ayala-Zavala, Rosas-Domínguez, Vega-Vega & González-Aguilar, 2010). Aunque numerosos estudios han revelado que las fracciones no comestibles de algunos frutos y vegetales como la cáscara y las semillas tienen un contenido de moléculas bioactivas mayor al del producto principal como el caso de la manzana Golden Delicious (Vieira, Borges, Copetti, Pietro, Nunes, & Fett, 2011) y la granada (Pande & Akoh, 2009). El uso de estas fracciones residuales como fuentes de moléculas de interés requiere mayor investigación, ya que éstas son afectadas por las prácticas agronómicas, manejo de postcosecha, así como factores ecológicos y agrícolas.

En la región Sur-Sureste de Jalisco se cultiva el aguacate Hass, es necesario conocer las propiedades y contenido de compuestos biofuncionales en cáscara y semilla de este aguacate de diferentes grados de calidad., con el objetivo de aportar valor agregado a la producción primaria y hacer un uso sostenible de los residuos de la producción agrícola e industrial abriendo así una posibilidad para la industria del aguacate mexicano.

La finalidad de este proyecto es realizar entonces una caracterización química de la semilla y cáscara de aguacate (*Persea americana* var. Hass), en el Centro Universitario del Sur de la Universidad de Guadalajara, localizado al sur de Jalisco en el municipio de Zapotlán el Grande, mediante espectrofotometría UV-Vis, cromatografía de gases y espectroscopía infrarrojo, para observar el efecto de cuatro grados de calidad del fruto en el contenido de

fenoles y ácidos grasos, determinando así su uso en futuras aplicaciones. Este proyecto surgió en respuesta a las inquietudes y necesidades de los productores mexicanos y tiene como finalidad presentar una opción que beneficie e impulse alternativas en el campo mexicano.

I Objetivos

General

Realizar la caracterización física y química de la semilla y cáscara de aguacate (*Persea americana* var. Hass) mediante las técnicas analíticas: espectrofotometría UV-Vis, cromatografía de gases y espectroscopía de infrarrojo para evaluar el contenido de fenoles, actividad antioxidante y contenido de lípidos para identificar un uso que genere valor agregado al aguacate.

Particulares

Observar el efecto de cuatro grados de calidad del fruto del aguacate (*Persea americana* var. Hass) en el contenido de fenoles y ácidos grasos de la semilla y cáscara mediante espectrofotometría UV-Vis, cromatografía de gases y espectroscopía infrarrojo para determinar su uso en futuras aplicaciones en el área de la salud.

Determinar el contenido de fenoles totales y actividad antioxidante de los extractos metanólicos de cáscara y semilla del aguacate (*Persea americana* var. Hass) por medio de espectrofotometría UV/Visible para conocer su actividad antioxidante.

Determinar los grupos funcionales presentes en los extractos metanólicos de semilla y cáscara de aguacate (*Persea americana* var. Hass) mediante la obtención del espectro de infrarrojo para identificar la presencia aparente de algunas biomoléculas.

Obtener el aceite de semilla y cáscara de aguacate (*Persea americana* var. Hass) de cuatro grados de calidad mediante extracción Soxhlet para su caracterización mediante cromatografía de gases, y obtener así el perfil de ácidos grasos.

II Justificación

La industria del aguacate es de gran importancia para la economía Nacional, debido a que México es el mayor productor a nivel mundial (Secretaría de Economía, 2012). Sin embargo, la industria se centra en la producción y venta del fruto fresco, un porcentaje de la producción de aguacate se considera como desperdicio que es ordinariamente incinerado y otro tanto se destina a la industrialización para la obtención de productos alimentarios, cosméticos y farmacéuticos. De acuerdo con Rodríguez-Sánchez et al. (2013), la industria procesadora del aguacate descarta del 21 al 30% del fruto, correspondiente a la semilla y cáscara. García-Fajardo, Ramos-Godínez, y Mora-Galindo (1999) estiman que se generan como desperdicio más de 3000 toneladas de semillas anualmente.

En la actualidad no existe una explotación consistente de los subproductos de la industria transformadora del aguacate pese a que los usos farmacéuticos de la semilla y cáscara se conocen desde la época precolombina: han sido documentadas propiedades antifúngicas (Rodríguez-Sánchez et al., 2013), antimicrobianas (Jiménez-Arellanes et al., 2013) y virustáticas, (Ding, Young-Won, Kinghorn & D'Ambrosio, 2007), convirtiéndolos en una fuente de moléculas con aplicaciones en las industrias alimentaria, farmacéutica y cosmética, además de que se ha observado que tiene propiedades como combustible debido a que es una fuente de metilésteres de alta calidad (Knothe, 2013).

Experiencias en otros cultivos como la granada han mostrado que el estudio de la composición química de las fracciones residuales ha abierto alternativas de explotación lucrativas y de alto valor biológico con importancia a nivel internacional.

Por las razones ya expuestas se planteó responder la pregunta de investigación a través de una serie de determinaciones químicas, que permitieran obtener información acerca de la composición de los subproductos de la industria del aguacate, permitiendo así plantear el desarrollo de una aplicación que beneficie a los productores de aguacate generando valor agregado, estableciendo un precedente sobre el aprovechamiento de los subresiduos de la producción agrícola.

III Hipótesis Si se compara el perfil químico de los residuos de cuatro grados de calidad comercial de aguacate Hass entonces se podrá identificar la clase comercial más apropiada para darle un uso industrial.



Marco Teórico



IV Marco teórico

4.1 Origen del aguacate

El aguacate es una planta dicotiledónea del orden Laurales y la familia Lauraceae, originaria de Mesoamérica su cultivo se encontró desde Nuevo León hasta Costa Rica (Yahia & Woolf , 2011).

La familia Lauraceae incluye 50 géneros y 2500 a 3000 especies dentro de las cuales se encuentran especies de importancia comercial y cultural; como el laurel y la canela (Schaeffer, Wolstaholme & Whiley, 2013). Actualmente el aguacate es el miembro de esta familia de mayor impacto comercial a nivel mundial.

Algunos autores como Yahia y Woolf (2011) consideran que el fruto de aguacate apareció aproximadamente hace 12 mil años. Existe evidencia arqueológica de cotiledones encontrados en la cueva de Coaxcatlán en Tehuacán que datan del 8000 a.C. y 7000 a.C., en el estado de Michoacán se han encontrado restos del 4500 aC (Téliz & Marroquín, 2008).

Se considera que el aguacate figuró dentro de los alimentos principales de las poblaciones mesoamericanas; existían poblaciones dedicadas al cultivo del aguacate en los años 200 aC y 600 dC. denominadas como Ahuacatlán, en Nayarit y sur de Jalisco (Téliz & Marroquín, 2008).

Desde la época prehispánica fue un fruto apreciado, incluido dentro de los tributos que se hacían al imperio Mexica, de acuerdo con Téliz y Marroquín (2008), el fruto se menciona en el Códice Mendocino y el Códice de Tepetlaoztoc, como un tributo habitual, además de numerosas menciones del siglo XVI que evidencian la importancia del fruto y su amplia distribución por el continente americano.

La alta estima del fruto por los pobladores y las impresiones de los europeos ante el fruto se pueden discernir en las palabras del historiador Fernández de Oviedo quien dice del aguacate en 1526 (Popenoe & Zentmyer, 1996):

[...] y en el centro del fruto hay una semilla como una castaña pelada...y entre ésta y la cáscara se encuentra la parte comestible la cual es abundante y es una pasta muy similar a la mantequilla y de un exquisito sabor, y aquellos que tienen esos frutos los guardan con alta estima...

El surgimiento de las diferentes variedades de aguacate se ha ligado al comercio que existía en la América Precolombina. Según Galindo-Tovar, Arzate-Fernández, A., Ogata-Aguilar, N. y Landero-Torres (2007) éstos eran ya conocidos en el imperio Mexica, figurando dentro del código Florentino; *aoacatl*, variedad *mexicana*, *quiloacatl*, variedad *guatemalteca* y *tlacacolaocatl* a la variedad *antillana* o de las Indias Occidentales.

Con la llegada de los españoles, el aguacate se extendió primero a Cuba y Jamaica, siendo el primer registro de 1657, mientras que en Europa el primer árbol se encontró en Valencia en 1601 (Schaeffer et al., 2013). Sin embargo, el aguacate no llegaría a Estados Unidos hasta 1871 cuando se realizó la primera recolecta de semillas, a partir de ahí la industria del aguacate comenzó a desarrollarse. El desarrollo trajo consigo la necesidad de obtener mejores variedades, con características nuevas y resistencia a las condiciones ambientales.

Durante la primera década del siglo XX, notando la importancia comercial del producto, West Indian Garden comisionó a Carl Schmidt, la recolección de material en México. Obtuvo una muestra de Atlixco, Puebla, que por sus características sería denominado ‘*Fuerte*’ (Smith, Williams, Plucknett, & Talbot 1992 citados por Bost, Smith & Crane 2008). Para 1930 la variedad *Fuerte* representaba el 75% de los frutos en los huertos (Bost et al., 2008), sin embargo, en 1920 se desarrolló el cultivar que se extendería alrededor del mundo; la variedad ‘*Hass*’.

Se desconocen, las semillas de las cuales proviene la variedad *Hass*, ya que fue producida por accidente. Al ser preferida por los hijos de Rudolph Hass, quien la compró de A. R. Rideout un innovador y pionero en desarrollo de variedades de aguacate, observó que el fruto era de gran calidad, patentando el cultivar en 1935 y comenzando su propagación. (University of California, 2002). Ésta fue una acción arriesgada considerando que el mercado había consumido frutos de la variedad ‘*Fuerte*’ al menos por 30 años.

4.2 Distribución

El aguacate es un fruto cuya distribución es amplia, cerca de 70 especies del género *Persea* se encuentran en América y 80 especies en el este y sureste de Asia (Ding et al., 2007)

Su hábitat natural se encuentra en las regiones subtropicales y tropicales (Asociación Nacional de Industriales de Aceites y Mantecas Comestibles [ANIAME], 2002) de Mesoamérica; hoy en día con los sistemas de irrigación, se pueden cultivar en todo el mundo (Paz et al., 2014).

Los cultivares provenientes de las variedades *guatemalteca* y *antillana* se producen en su mayoría en países tropicales con menos tecnología, pero de acuerdo con Cowan y Wolstenholme (2016), son inferiores nutricionalmente.

Las variedades *mexicana* y *guatemalteca*, de las cuales proviene la variedad *Hass*, son nativas de climas tropicales y subtropicales aunque hoy en día se encuentran en gran variedad de climas, siendo producidas en países como Israel, Estados Unidos, Sudáfrica, Perú, Colombia y Australia (Cowan & Wolstenholme, 2016).

En la región Sur de Jalisco, hay aguacate cultivado en trece municipios: Zapotlán el Grande, Concepción de Buenos Aires, Tamazula de Gordiano, San Gabriel, Tuxpan, Tonila, Zapotiltic, Gómez Farías, Sayula, Tapalpa, Quitupan y Mazamitla (I. Gómez, comunicación personal 22 de mayo, 2017)

4.3 Clasificación

El aguacate se clasificó como *Persea gratissima* por Gaertner y *Persea americana* por Miller (Yahia & Woolf, 2011).

De estos se distinguen tres variedades:

- Mexicana (*Persea americana* var. *drymifolia*)
- Guatemalteca (*Persea americana* var. *guatemalensis*)
- Antillana (*Persea americana* var. *americana*)

Schaeffer et al. (2013), mencionan que pese a la distribución del fruto, las variedades retuvieron diferencias morfológicas y genéticas.

La variedad *mexicana* se conoce por un alto contenido de aceite, mayor al 30% (Cowan & Wolstenholme, 2016), sus frutos son pequeños, de piel suave y delgada, pulpa verde y tolerancia al frío (Yahia & Woolf, 2011), las hojas de todos los individuos pertenecientes a esta variedad tienen un característico olor a anís (Barrientos, Muñoz, Reyes, Borys & Martínez, 2008)

Por otra parte, la variedad *antillana* tiene un contenido de aceite menor al 8% (Cowan & Wolstenholme, 2016), contiene más azúcar y agua, es de mayor tamaño, tiene piel suave y brillante (Yahia, & Woolf, 2011), presenta un sabor dulce y amargo al final y es más sensible al frío (Barrientos-Priego et al., 2008).

Mientras que la variedad *guatemalteca*, tiene un contenido intermedio de aceite y sabor a nuez (Cowan & Wolstenholme, 2016), esta variedad tiene una adaptación intermedia al frío, son frutos de mayor tamaño y piel gruesa (Yahia & Woolf, 2011).

Actualmente se encuentran clasificadas más de 500 variedades de aguacate (ANIAME, 2002) de las cuales se hacen selecciones para crear cultivares atractivos comercialmente y resistentes a diferentes condiciones. Pese a la existencia de un gran número de cultivares, sólo algunos son producidos, debido a diversos factores como: condiciones de producción y comercio.

La industria aguacatera se basa en las variedades resultantes de una mezcla de las variedades *mexicana* y *guatemalteca*, de acuerdo con Litz y Gómez-Lim (2007), la piel negra del aguacate *Hass* y la verde de la variedad *Fuerte*, representan el estándar comercial.

4.4 Descripción

El aguacate es un árbol de crecimiento rápido con grandes masas de hojas verde oscuro (Gouegni & Abubakar, 2013). Es un árbol siempre verde, con una altura aproximada entre 20 (Litz & Gómez-Lim, 2007) y 30 metros (Paz et al., 2014), tiene inflorescencia en el eje de las hojas, con flores bisexuales de 6 pétalos desiguales y de 6 a 9 estambres (Chanderbali, Soltis, Soltis & Wolstenholme, 2013); la floración comienza en primavera.

Las variedades se clasifican como A o B por su periodo de floración; cada flor abre dos veces en dos días y son masculinas o femeninas, la variedad tipo A presenta flores femeninas por la mañana para que el estigma esté más receptivo al polen, mientras que el B lo hace por la tarde, según Paz et al., (2014) este comportamiento se denomina como dicogamia sincronizada.

El árbol se adapta bien a la humedad, aunque eso depende de las variedades de las que proviene; la temperatura óptima de desarrollo se encuentra entre 5 y 17° C (Paz et al., 2014).

Los frutos se clasifican como frutos climatéricos de acuerdo a su patrón de respiración (Barmore, 1976), por ello se pueden cosechar sin madurar para que posteriormente presenten ablandamiento.

El fruto se describe botánicamente como una baya (Cowan & Wolstenholme, 2016) con una sola semilla grande. Tiene forma redonda, ovalada o piriforme, el tamaño depende de la división celular que es dependiente del metabolismo de carbohidratos, la nutrición mineral y la síntesis de isoprenoides (Cowan & Wolstenholme, 2016). De acuerdo con Chanderbali et al., (2013) el fruto puede pesar desde 50 g hasta 2 kg.

La piel o exocarpo puede ser verde, amarilla (Yahia & Woolf, 2011) café o morada tiene una cutícula cerosa, y una sola capa de epidermis. La pulpa o mesocarpio está constituida por tejido parenquimatoso con consistencia de mantequilla cuyas vacuolas contienen mucho aceite, y junto a las que se encuentran células especializadas en su almacenamiento denominadas ideoplastos (Chanderbali et al., 2013).

La semilla consta de dos cotiledones, las células de parénquima de la semilla almacenan almidón, proteínas o aceites, el embrión contiene el 50% del aceite de semilla, además de nutrientes de reserva (García-Fajardo, et al., 1999). La formación de la semilla es importante en el desarrollo del fruto (Hershkovitz, Friedman, Goldschmidt, Feygenberg & Pesis, 2011), ya que se ha observado que el tamaño de los aguacates sin semilla es significativamente inferior a los que si la poseen.

4.5 Características del aguacate Hass

El aguacate *Hass*, presenta genes de las variedades *mexicana* y *guatemalteca*, según Barrientos-Priego et al., (2008) es más cercano a la variedad *guatemalteca*, aunque se desconocen sus progenitores. El fruto tiene forma de pera y tiene un peso de 170 g a 350 g (Barrientos-Priego et al., 2008), la pulpa es cremosa, y a diferencia de la variedad *mexicana*, que es fibrosa, este cultivar no tiene fibra. La cáscara es rugosa de color morado oscuro y tiene una semilla pequeña.

El aguacate *Hass* tiene una mejor adaptación al clima templado, lo que permite que el fruto se desarrolle altitudes desde 1500 m hasta 2500 m sobre el nivel del mar (Barrientos-Priego et al., 2008), de tal forma que el fruto se puede cosechar todo el año.

4.6 Clasificación comercial

En la República Mexicana, la clasificación comercial del aguacate *Hass* está sujeta a la normatividad vigente, y a las tendencias de consumo en los diferentes destinos de exportación.

De acuerdo con la Norma Oficial Mexicana NMX-FF-016-SCFI-2006 (Diario Oficial de la Federación, 21 de julio del 2016) existen tres grados de clasificación comercial:

- Suprema
- Clase I
- Clase II

Adicionalmente se menciona una cuarta clase, que corresponde a los aguacates descalificados y se considera que son de uso industrial,

Los frutos de las clases aceptadas son frutos sanos, enteros que no presentan podredumbre ni deterioro, no deben presentar daños visibles, deben estar libres de olores o sabores extraños, además de no haber presencia de insectos. Los frutos deben haber alcanzado la madurez fisiológica.

A continuación, se mencionaran las características que definen cada clase:

Suprema. - Frutos de la mejor apariencia en cuanto a forma, desarrollo y coloración, debe haber uniformidad en cuanto a grado de madurez y tamaño. En cuanto al nivel de daño, debe ser mínimo, en no más de 2 cm² de la superficie del fruto.

Especifica que no debe existir daño por varicela, heladas, quemaduras o clavo.

Clase I.-El fruto debe tener en general buen aspecto, forma, desarrollo y coloración. Se aceptan defectos solamente en 6 cm² de la superficie, estos deben ser leves: raspaduras, rozaduras, costras, manchas o quemaduras de sol.

En este caso se aceptan daños por trips, roña, varicela, granizo y rozaduras, pero no debe haber daños por el sol, heladas, clavo o daño por larvas.

Clase II.- En esta clasificación se requiere uniformidad en cuanto a grado de madurez, coloración y tamaño, la forma y desarrollo deben ser típicos de la variedad.

Se acepta hasta 50% de daño superficial, causados por roña, trips, varicela, granizo y rozaduras. A diferencia de las clases anteriores la norma permite cierto daño que en las otras clases está prohibido, incluso especifica el daño permitido:

1. 3 pústulas de clavo de 1 cm
2. 10 pústulas de viruela seca

3. Quemaduras de sol en no más del 30 % de la superficie, siempre y cuando no sea de color amarillo.

4.7 Producción nacional y mundial

El aguacate es uno de los cultivos más importantes a nivel mundial, ocupa el lugar 17 de las 20 frutas más exportadas del mundo (Bost, Smith & Crane, 2013). México es el principal país productor y exportador, seguido de Chile, España e Israel (Laboratorio Nacional de Genómica para la Biodiversidad [Langebio], 2015) la exportación de aguacate mexicano representa el 40% del mercado mundial.

De acuerdo con Cardemil (2003), el comercio mundial de aguacate tuvo un aumento significativo en las décadas de los 80 y 90, siendo favorable para México ya que el aguacate *Hass* se produce durante todo el año.

En México se estima que la industria del aguacate genera más de 100 mil empleos directos e indirectos, siendo además una entrada de divisas.

En 2007 había aproximadamente 93 mil hectáreas dedicadas al cultivo, produciendo 762 300 toneladas anuales, siendo el 80 % aguacate *Hass* (Ortega-Mendoza, Jiménez-García, Miranda-López, Sánchez-Pérez & Villagómez-Torres, 2007).

En la **Tabla 1** se muestran las toneladas producidas por los principales países productores de aguacate del 2004 al 2014, de acuerdo con esta información México contribuyó al menos el 30 % de la producción mundial durante 10 años. De acuerdo con Macías (2015) entre el 2000 y el 2012 las exportaciones del aguacate mexicano crecieron alrededor de 22.9 %

A pesar del gran volumen de aguacate exportado por México, éste es mucho menor a su producción; en el 2013 las exportaciones correspondieron al 38.79 % de la producción, mientras que Chile en ese mismo año exportó el 53.55 % de la producción (FAOSTAT, 2017).

En el 2013, los principales países importadores de aguacate fueron:

- Estados Unidos (46.9 %)
- Países Bajos (11.7 %)
- Francia (8.1 %)

- Japón (4.9 %)
- Canadá (4.7 %)

Tabla 1 Producción mundial de aguacate

Producción en toneladas						
País	2004	2006	2008	2010	2012	2014
Chile	160000	205000	122633	166382	160000	160000
Colombia	170985	191710	183968	205443	255195	288739
Estados Unidos	162749	247000	105230	158150	238495	179124
Indonesia	221774	239463	244215	224278	294200	307326
Israel	73160	84909	53130	69545	73351	91035
Kenia	80316	103935	103523	202294	166948	218692
México	987000	1134250	1162429	1107135	1316104	1520695
Perú	108460	113259	136303	184370	268525	349317
República Dominicana	218790	216378	188139	288684	290011	428301
Rwanda	40000	60000	79291	130407	145000	161519
Producción Mundial	3214442	3669826	3461364	3946231	4490729	5028756

Fuente: Food and Agriculture Organization of the United Nations [FAOSTAT] (2017)

El aguacate como producto industrializado se usa para elaborar untables (guacamole etc.), aceites de uso cosmético y farmacéutico, además de producir aceite refinado comestible. Sin embargo, en México el aguacate para uso industrial está limitado al 16 % de la producción (Secretaría de Economía [SE], 2012), de forma contrastante se observa que de acuerdo con los análisis de competitividad realizados por Macías (2015), México es uno de los países más competitivos con altas tasas de crecimiento en el mercado mundial, sin embargo se limita a tener una participación como proveedor de insumos de poco valor agregado.

Paradójicamente, desde la antigüedad el aguacate ha tenido numerosos usos, en México y Centroamérica se ha consumido el aguacate en diferentes platillos, las hojas se han utilizado como condimentos, y por sus propiedades, como medicinas. Otro uso interesante y quizás desconocido es el de componente de un licor danés llamado advocaat (Bost et al., 2013)

El aguacate *Hass* es apreciado tanto por su contenido de pulpa, aceite y diversas características nutricionales, como por las posibles aplicaciones cosméticas (Knothe, 2013), en el aspecto nutricional, se ha considerado como un alimento funcional.

4.8 Lípidos

Dentro de los componentes más importantes del aguacate se encuentran los lípidos, que representan cerca del 60 % de materia seca del mesocarpio (Bost, et al., 2013) y son responsables del sabor.

4.8.1 Generalidades

Los lípidos son biomoléculas de naturaleza hidrocarbonada que se disuelven en disolventes no polares que desempeñan diversas funciones biológicas; estructura, transporte, almacenamiento y de reconocimiento celular (Lehninger, 1990).

Los lípidos se pueden clasificar como: complejos y son aquellos que contienen ácidos grasos y simples los que no los contienen. En de la primera categoría se encuentran los triacilgliceroles que son los componentes principales de los aceites y grasas (Solomons & Fryhle, 2011).

Las propiedades físicas, químicas y nutricionales de los aceites y grasas están relacionados con las estructuras químicas de sus componentes, en la naturaleza se conocen alrededor de 1000 ácidos grasos naturales (Gunstone, 2004).

Los ácidos grasos naturales son consecuencia de los procesos de biosíntesis, cumplen con ciertas características que los distinguen: consisten de una larga cadena hidrocarbonada con un grupo carboxilo terminal, tienen un número par de carbonos, cuando presentan insaturaciones generalmente tienen una configuración *cis*, además presentan un patrón de insaturación 1,4. Los ácidos grasos naturales rara vez tienen otros grupos funcionales además del carboxilo y los centros insaturados.

Los ácidos grasos en las células se encuentran en la forma de fosfolípidos, monoacilgliceroles, di y triacilgliceroles, ácidos grasos no esterificados y ésteres de colesterol, juntos mantienen la integridad de la célula, la cual intercambia los ácidos según sus necesidades, modificando los ácidos grasos de acuerdo al medio en el que se encuentran (Lands, 2017).

Los más abundantes poseen una longitud de cadena de entre 14 y 22 átomos de carbono (Lehninger, 1990) de tal forma que el 97 % de los ácidos grasos encontrados en la naturaleza se reducen a tan sólo ocho:

- Ácido láurico 4 %
- Ácido mirístico 2 %
- Ácido palmítico 11 %
- Ácido esteárico 4 %
- Ácido oleico 34 %
- Ácido linoleico 34 %
- Ácido α -linolenico 5 %
- Ácido eriscico 3 %

En la naturaleza predominan los ácidos grasos insaturados sobre los saturados, especialmente en plantas superiores, aunque los mamíferos pueden sintetizar diferentes ácidos grasos, algunos como el ácido linoleico y el γ -linolénico sólo se pueden adquirir en la dieta y reciben el nombre de ácidos grasos esenciales, también nombrados como ácidos omega 3 y omega 6. De acuerdo con Lehninger (1990) el ácido linoleico integra del 10 al 20% de los ácidos grasos totales de sus triacilglicéridos y fosfoglicéridos,

4.8.2 Composición lipídica del fruto del aguacate.

Los lípidos encontrados en el aguacate incluyen mono, di y triacilglicéridos, cuando las frutas se encuentran en un 85 % de madurez, éstos funcionan como almacén de energía, el resto funcionan como estructurales.

De los ácidos grasos presentes, el 16-22 % son saturados, mientras que del 74-83 % son insaturados, sin embargo este porcentaje depende de la variedad y el estado de madurez. Los ácidos grasos más abundantes en los triacilglicéridos del aguacate son oleico (59-81 %), linoleico (7-14 %), palmítico (7-22 %) y palmitoléico (3-11 %) (Cowan & Wolstenhome, 2016).

Adicionalmente se encuentra una fracción insaponificable que contiene distintos compuestos.

El aguacate contiene una gran variedad de compuestos lipofílicos bioactivos que tienen actividad antioxidante y antiradicalaria (Villa-Rodríguez, Molina-Corral, Ayala-Zavala, Olivas, & González-Aguilar, 2010).

El aceite de aguacate tiene entre 74-83 % de ácidos grasos insaturados (Ariza, López, Coyotl, Ramos, & Martínez-Ariza, 2011) siendo el principal el oleico, y el resto (16-22 %) son ácidos grasos saturados (Chow, 2008).

En el aguacate *Hass* el contenido de ácidos grasos se encuentra distribuido de la siguiente manera (Gunstone, 2004):

60-70 % oleico

10-20 % palmítico

10-15 % linoleico

Pese a que se ha observado que el perfil lipídico se mantiene constante a lo largo del tiempo, en aguacate *Hass* hay un descenso considerable en ácido oleico lo que implica que el fruto atraviesa por un estado de desarrollo.

La cáscara de aguacate por lo general presenta un contenido menor de ácidos grasos que la pulpa, principalmente se ha identificado la presencia de los ácidos oleico y linoleico, además de que se menciona que contiene otros ácidos grasos pero en general el contenido es mucho menor que en pulpa (Morais et al., 2017).

En semillas generalmente predominan los ácidos grasos C 18 insaturados (Christie, 1989), en el caso del aguacate el aceite se concentra en la pulpa, en la semilla se puede encontrar aproximadamente el 2%, los ácidos grasos mayoritarios de la semilla son el palmítico, oleico y linoleico además de contar con ácidos grasos tales como cáprico, láurico, mirístico, esteárico, palmitoleico, linolénico, vaccénico, araquídico, lignocérico entre otros (Chow, 2008).

Aproximadamente el 55 % del aceite de semilla es material insaponificable (Bockisch, 1998) que se utiliza en aplicaciones farmacéuticas y cosméticas. Incluso se ha observado que el material insaponificable sirve como estimulante para la deposición de material de reparación en zonas afectadas de cartílago (Cowan & Wolstenholme, 2016).

La fracción insaponificable contiene diferentes compuestos como terpenos, prostaglandinas y esteroides. No se ha encontrado una relación directa entre los componentes insaponificables y el nivel de aceite de aguacate, ni una relación entre la evolución de ácidos grasos y las materias insaponificables (Olaeta, Undurraga, & Espinosa, 2007).

4.8.3 Análisis de lípidos

Extracción

Soxhlet y Soxtec.- El método Soxhlet se desarrolló en 1879 como un método de extracción líquido/sólido en el que se coloca una muestra sólida en un cartucho de celulosa y se coloca un disolvente a punto de ebullición, el disolvente condensado gotea en la muestra, solubilizando el material extraíble y sifoneando de regreso al disolvente, repitiendo el ciclo por varias horas. Hoy en día el método Soxhlet sigue siendo un método de extracción exhaustiva muy favorecido (Luthria, 2004), sin embargo, presenta serios inconvenientes derivados del uso de disolventes orgánicos que deben removerse exhaustivamente además de que se debe buscar un disolvente de bajo costo y de bajo impacto ambiental.

Cuantificación

La cuantificación de lípidos generalmente se lleva a cabo por diferentes técnicas instrumentales como: cromatografía de gases, cromatografía de líquidos de alta resolución y espectrometría de masas. Previo al análisis es necesario extraer las muestras de las matrices en un estado de relativa pureza (Christie, 1989), posteriormente se forma un derivado que pueda adaptarse a la técnica de análisis.

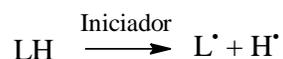
La técnica más empleada es la cromatografía de gases, la detección y cuantificación generalmente se lleva a cabo con un detector de ionización de flama (FID) o un espectrómetro de masas. De acuerdo con Ackman, Sebedio, & Kovacs (2008) 99 % de los análisis de ácidos grasos en alimentos se realizan por cromatografía de gases usando como derivado los metilésteres de los ácidos, que se prefieren a otros derivados ya que representan una ventaja en cuanto a las condiciones cromatográficas para el análisis.

4.9 Radicales libres

Los radicales libres se forman por la fragmentación homolítica de un enlace, requiere energía para que ocurra esta fragmentación y puede ser térmica, fotoquímica, radioquímica

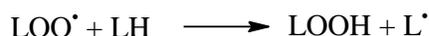
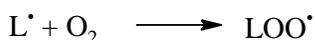
o por una reacción de óxido reducción (Konigsberg, 2008). Estas reacciones proceden a través de un mecanismo en cadena que ocurre en tres etapas:

Iniciación. - En esta etapa se producen los primeros radicales libres por la presencia de uno o varios iniciadores, que proveen de la energía necesaria para romper el enlace, dando lugar a un intermediario.



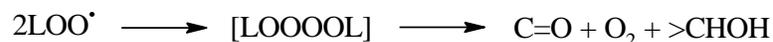
LH = Lípido, **L[•]** = Radical alquilo

Propagación. -Se genera un nuevo radical a expensas del otro, en el caso de las reacciones de oxidación de lípidos, los radicales reaccionan con el aire para producir radicales peroxilo, que reaccionan con el sustrato para formar productos primarios; hidroperóxidos que al acumularse originan malonaldehído, hexanal y 4-hidroxi-nonenal (Saldaña, 2008). La cadena continúa hasta que escasea el sustrato o hasta que ocurra un evento de terminación anticipado.



LH = Lípido, **LO O[•]** = radical peroxilo, **LOOH** = lipopéroxido, **L[•]** = Radical alquilo

Terminación. - Ocurre cuando se han acumulado suficientes radicales, que interactúan para acabar la cadena y formar productos estables. En el caso de la oxidación de los lípidos, los radicales peroxilo reaccionan consigo mismos.



LO O[•] = radical peroxilo

Los radicales pueden ser partícipes de diferentes reacciones como las de óxido reducción, dimerización, etc. La polimerización es una de las aplicaciones más destacadas de los mecanismos por vía radicales.

Otra reacción a considerar es la llamada reacción de Fenton:



En esta reacción se generan radicales alquilo que pueden reaccionar con oxígeno molecular y generar peróxidos orgánicos que forman nuevamente radicales, si hay una oxidación completa, todos los compuestos orgánicos se transforman en CO₂ y agua (Konigsber, 2008), además de las aplicaciones industriales que tiene esta reacción ocurre en los seres vivos con consecuencias importantes.

4.9.1 Especies reactivas de oxígeno

El inevitable uso del oxígeno por los organismos produce especies reactivas denominadas Reactive Oxygen Species (ROS), se producen por la reducción del oxígeno que forma al anión superóxido O₂^{•-} y posteriormente peróxido de hidrógeno que puede atravesar las membranas, otras especies reactivas son (De la Fuente, 2011):

- Radical libre hidroxilo (•OH)
- Oxígeno singulete (¹O₂)
- Ácido hipocloroso (HOCl)
- Ozono (O₃)

Generación de radicales

Las reacciones de óxido reducción implican el intercambio de electrones entre diferentes elementos, es por esto que, en los organismos los sitios de estas reacciones están confinados en compartimientos especiales como la membrana lipídica, complejos proteicos anfipáticos, y el interior de la mitocondria (Konigsber, 2008), otras locaciones donde se generan ROS de forma endógena incluyen los microsomas, peroxisomas, la ciclooxigenasa o la xantina oxidasa (De la Fuente, 2011).

Una de las funciones del oxígeno en el organismo es funcionar como aceptor de electrones de la cadena respiratoria en la mitocondria para la obtención de ATP, sin embargo la transferencia continua de electrones sugiere que puede haber fugas que permitan la generación de oxígeno superóxido, cuando esto ocurre las enzimas antioxidantes de la

mitocondria transforman el superóxido en peróxido de hidrógeno (SOD superóxido dismutasa), posteriormente la enzima GPx (glutación peroxidasa) convierte el H₂O₂ en agua. Sin embargo, cuando las concentraciones de estas enzimas son insuficientes o las especies reactivas de oxígeno dañan la membrana mitocondrial, el peróxido se convierte en el radical hidroxilo por la reacción de Fenton que es catalizada por Fe y Cu de los complejos, los radicales resultantes de estas reacciones aceleran el daño en la cadena respiratoria, permitiendo una mayor fuga de electrones.

Independientemente de las reacciones que ocurren en las células, existen factores externos que propician la producción de radicales libres, estos pueden ser debido a la radiación ionizante, la luz ultravioleta y sustancias presentes en la contaminación ambiental como los óxidos de nitrógeno y de azufre.

El estrés oxidativo se refiere a la exposición de las células a un ambiente prooxidante donde los mecanismos de defensa antioxidante han sido rebasados (De la Fuente, 2011), aunque es un proceso que puede favorecer algunas reacciones que mejoran la homeostasis celular, muchas células, como las del sistema inmune, dependen de que exista un equilibrio adecuado entre oxidantes y antioxidantes.

4.10 Antioxidantes

4.10.1 Generalidades y clasificación

De acuerdo con De la Fuente (2011) un antioxidante es una sustancia capaz de retrasar o inhibir la oxidación de un sustrato cuando se encuentra en concentraciones bajas en relación al sustrato.

Los agentes oxidantes como los radicales hidroxilo y superóxido dañan a las proteínas, que se ha observado se acumulan durante el envejecimiento, y al DNA cuyos daños deriva en efectos genotóxicos y carcinogénicos. Los sistemas biológicos han desarrollado dos tipos de defensas antioxidantes; existen antioxidantes endógenos como las enzimas catalasa y las tiorredoxinas (Marcos, 2011), y los no enzimáticos como el tocoferol, los carotenos, y el ácido ascórbico. Esto ha llevado a la clasificación de los antioxidantes por su fuente en cuatro grupos (Prior, Wu & Schaich, 2005):

1. Enzimas (glutación peroxidasa GPX, superóxido dismutasa SOD)
2. Grandes moléculas (albúmina, ferritina, ceruloplasmina)
3. Moléculas pequeñas (ácido ascórbico, ácido úrico, tocoferol, polifenoles)

4. Hormonas (estrógeno, angiotensina, melatonina).

Por sus características físicas y químicas cada antioxidante responde de diferente forma ante los radicales.

Los agentes antioxidantes externos tienen la habilidad de evitar o proteger al organismo de los compuestos o efectos generadores de especies reactivas que inducen daños oxidativos. De los diferentes antioxidantes no enzimáticos, como los tocoferoles, el ácido ascórbico y los polifenoles, se abordará el tema de los fenoles.

4.10.2 Fenoles

Las plantas se han adaptado al ambiente mediante diversos mecanismos, explotando los sistemas metabólicos, los metabolitos secundarios se clasifican de acuerdo a su ruta biosintética y características estructurales, se conocen más de 200 mil metabolitos de plantas de los cuales 25 mil son terpenoides 12 mil alcaloides y 8 mil fenoles (Ross, 2014). Los fenoles representan el 2% de todo el carbono fotosintetizado por las plantas (Lattanzion, Kroon, Quideau & Treutter, 2008).

Cumplen papeles relacionados con el crecimiento, y reproducción de las plantas, protegiéndolas de patógenos y predadores, aunque no participan en los procesos metabólicos esenciales son parte del desarrollo integral de las plantas (Lattanzion et al, 2008).

Los polifenoles juegan roles importantes en cuanto a color, sabor y astringencia siendo característicos de muchas frutas, se pueden encontrar encapsulados en estructuras como las vacuolas, o los insolubles en la pared vegetal. (Caballero-Valdés, Olivares-Miralles, Soto-Maldonado & Zúñiga-Hansen, 2017).

Los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios derivados de las rutas del ácido shikímico, y de los policétidos o acetogéninas, (Nagendra, et al. 2004). En las plantas se encuentran como fenoles simples, ácidos fenólicos, flavonoides, cumarinas, taninos, estilbenos, ligninas y lignanos (Hurtado, Carrasco, & Fernández, 2011). La estructura base de estos compuestos es un anillo aromático con uno o más sustituyentes hidroxilo, que pueden ser moléculas sencillas o compuestos altamente polimerizados.

En la naturaleza estos compuestos se encuentran normalmente unidos a polisacáridos o como derivados funcionales de ésteres y metil ésteres. Son compuestos solubles en

disolventes orgánicos polares, muestran una intensa absorción en el ultravioleta y el visible. La clasificación de los polifenoles se muestra en la **Tabla 2**.

De éstos, los ácidos fenólicos, flavonoides y taninos se consideran componentes principales de las dietas. El reciente interés en los fenoles y los efectos que tienen en la salud se basa en las propiedades nutricionales de estos, su habilidad para prevenir las enfermedades degenerativas entre otras propiedades interesantes.

Los fenoles tienen una gran variedad de propiedades como antialérgicos, antitumorigénicos, antiinflamatorios, antimicrobianos, antioxidantes, antitrombóticos, cardioprotectores y vaso dilatadores (Ding, et al, 2007).

Aunque los efectos que pueden tener sobre la salud humana, están limitados a la forma en que estos son absorbidos y metabolizados, lo cual depende de la estructura, conjugación con otros fenoles, grado de glicosilación, tamaño de la molécula y solubilidad.

Por sus propiedades, su inclusión en la dieta normal ha sido muy bien vista, sin embargo, los polifenoles tienen la habilidad de disminuir la digestión proteica, además de actuar en algunos casos como inhibidores enzimáticos (Nagendran, Sundram & Sammans, 2006).

Los compuestos fenólicos tienen una conocida actividad antioxidante debido a que tienen la habilidad de donar protones, captar radicales libres, o quelar cationes metálicos (Afanas'ev, Dorozkho, Brodskii, Kostyuk, & Potapovitsch, 1989), además modifican la fluidéz de la membrana afectando la difusión de radicales y restringen las reacciones de oxidación (Ross, 2014).

Las propiedades de estos compuestos están íntimamente relacionadas con sus estructuras, un ejemplo de estructura de un flavonoide puede observarse en la **Figura 1**.

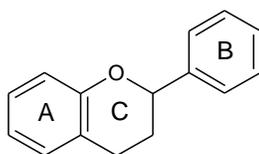
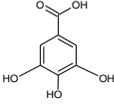
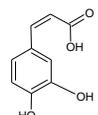
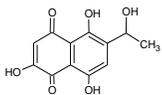
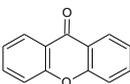
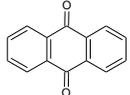
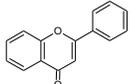
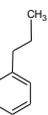
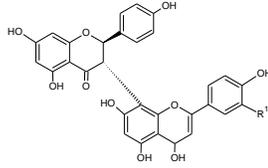
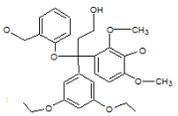
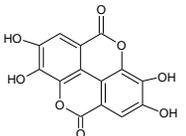


Figura 1 Estructura del flavonoide

Nota: Imagen obtenida de Cuevas-Valenzuela, Vergara-Salinas y Pérez-Correa, J. (2016)

Tabla 2. Clasificación de fenoles de acuerdo con su estructura química.

Clase	Estructura
Simple, benzoquinona	C_6 
Ácidos hidroxibenzóicos	$C_6- C_1$ 
Acetofenonas, ácidos fenilacéticos	$C_6- C_2$ 
Ácidos hidroxicinámicos, fenilpropanóides(cumarinas, isocumarinas)	$C_6- C_3$ 
Naftoquinonas	$C_6- C_6$ 
Xantonas	$C_6- C_1- C_6$ 
Antraquinonas	$C_6- C_2 C_6$ 
Flavonoides, isoflavonoides	$C_6- C_3- C_6$ 
Lignanós, neolignanós	$(C_6- C_3)_2$ 
Biflavonoides	$(C_6- C_3- C_6)_2$ 
Ligninas	$(C_6- C_3)_n$ 
Taninos condensados(proantocianidinas o flavolanos)	$(C_6- C_3- C_6)_n$ 

Las propiedades como removedores de radicales de este tipo de estructuras se debe a que son fácilmente oxidables y reaccionan más rápido que las biomoléculas con los radicales (Torres, Ramos-Romero, & Pérez-Jiménez, 2016), además existe evidencia de que la actividad antioxidante incrementa con el grado de hidroxilación (Nagendran, et al., 2006). En la imagen de la estructura del flavonoide la actividad antioxidante está relacionada con el número de grupos hidroxilo del anillo B (**Figura 1**), ya que estos dan estabilidad por deslocalización de electrones, además de ser sitios activos para metales.

4.10.3 Fenoles en el fruto del aguacate

En el fruto de aguacate se encuentran diferentes polifenoles, siendo los más representativos:

- Catecol
- 4-Metilcatecol
- Dopamina
- Pirogalol

La cáscara de los aguacates contiene niveles elevados de compuestos fenólicos. Pahu-Ramos et al. (2012) estima que contribuye al menos con el 38 % de la capacidad antioxidante total del fruto. En la cáscara se han identificado grupos de fenoles tales como; monómeros del flavonol, proantociandinas, ácidos hidroxicinámicos y glicósidos de flavonoles, predominando la catequina y sus dímeros (Kosinska, et al., 2012).

De acuerdo con Asyifah, Lu, Ting, y Zhang (2014) la semilla de aguacate tiene altos contenidos de compuestos fenólicos, encontrando que tiene una gran capacidad antioxidante y contenido de proantocianidinas superior al de la pulpa.

Se han identificado tres tipos de polifenoles en extractos de semilla: monómeros del flavonol, proantocianidinas e ácidos hidroxicinámicos, el compuesto predominante es el galato de epicatequina (Kosinska et al., 2012). Además de que se conoce que tiene un gran contenido de proantocianidinas y taninos a los que se les atribuye principalmente la actividad antioxidante (Jiménez-Arellanes et al., 2013).

La **Tabla 3**, resume la actividad biológica de diferentes extractos de la planta de aguacate.

Tabla 3 Actividad biológica de diferentes estructuras vegetales de aguacate Hass

Estructura	Extracto	Actividad observada	Compuestos(probables) responsables de la actividad	Referencia
Cáscara	Agua	Capacidad antioxidante, reductor de ROS	Epicatequina Procianidinas Ácido clorogénico	Calderón-Oliver, M. et al.(2016)
Semilla	Cloroformo	Inductor de apoptosis en células de cáncer de mama y pulmón	Persina, quercitrina, luteolina	Ding, H. et al(2007)
Semilla	Acetona, Heptano Metanol Acetato de etilo	Inhibidor de germinación y crecimiento de <i>Clostridium sporogenes</i>	Persedieno Persenona A, B y C Persina (2S,4S)-1-acetoxi-2,4-dihidroxi-n-heptadec-16-eno	Rodríguez-Sánchez,D.(2013)
Semilla	Acetona/agua/ácido acético	Alta capacidad antioxidante	Clorofila α , clorofila β , polímeros de procianidinas	Wang, W. , Bostic, T. y Gu, L.(2010)
Semilla	Metanol	Capacidad antioxidante	Procianidinas A y B, catequinas, ácido hidroxicinámico, proantocianidina, flavonoides y sus dímeros, ácidos hidroxibenzoicos, quercetina, quercetina glicosilada Ácido 5-O-cafeoilquinico	Kosinska, A. et al.(2012)
Cáscara		Aumento en la velocidad de epitelización en zona de herida	Ácidos grasos monoinsaturados	Lora(2014) citando a Henriques
Semilla		Antiobesidad	Ácido procatecuico Catequina y epicatequina Ácidos hidroxicinámicos, ácidos: vanílico, sirfingico y gálico	Rashid, M. et al.(2014)
Semilla	Acetato de etilo Acetona Metanol	Control de lípidos y glucosa en ratas con diabetes		
		Actividad contra <i>Candida ssp</i> , <i>Cryptococcus neoformans</i> , <i>Malassezia pachydermatis</i> , <i>Artemia salina</i>		
	Hexano	Larvas de <i>Aedes aegypti</i>		
		Actividad contra <i>Mycobacterium tuberculosis</i>		Jiménez, A. et al.(2013)
Hoja	Etanol	Inhibe a <i>Bacillus cereus</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Listeria monocytogenes</i>		
	Acetona	Actividad antiprotzoóo a : <i>Giardia lamblia</i> , <i>Entamoeba histolytica</i> y <i>Trichomas vaginalis</i>		

Tabla 3 Actividad biológica de diferentes estructuras vegetales de aguacate Hass (Continuación)

Estructura	Extracto	Actividad observada	Compuestos(probables) responsables de la actividad	Referencia
Pulpa	Etanol	Inductor de producción de β -defensina 2, recuperación de respuesta proinflamatoria Antibacterial: <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	D-manoheptulosa Perseitol Avocadenol A y B	Cowan, K y Wolstenholme, B.(2016)
Pulpa	Etanol	Reductor de aspartato aminotransferasa, alanina aminotransferasa, GGT y ALP		Gouegni, E y Abubakar, H(2013)
Pulpa	Lipofílico	Capacidad antioxidante	Ácidos grasos insaturados, flavonoides	Villa-Rodríguez, J. et al.(2010)
Pulpa	Acetona/agua Éter de petróleo	Inhibidor de monofenolasa enzima catalizadora de síntesis de melanina	Procianidinas, Prodelfiaidinas Propelargonidinas Epicatequina Gallocatequina Afzelequina	Chai, W. et al.(2015)
Pulpa	Cloroformo	Inductor de apoptosis en células cancerosas	Carotenoides	
Pulpa	Acetona	Expresión de proteínas en el gen supresor de tumores Reduce la generación de NO y superóxidos en leucocitos inflamados	Alcanoles Persenona A	D'Ambrosio, S. et al.(2011)
Hoja	Etanol	Antiinflamatoria Antifúngica: <i>Colletotrichum gloesporioides</i>	Alcanoles	
Hoja	Etanol	Inhibe el crecimiento de <i>Spodoptera exigua</i>	Persina, furanoides	Ding, H. et al(2007)
Hoja y semilla		Virustático: VIH, Herpes I, adenovirus tipo 3, mal de Aujerzky	Flavonoides: quercetrina, quercetina 3-O-D-arabinopiranososa	Narayanan BA.(2006) y Gibbs E, et al.(1999) citados por Ding, H. et al(2007)
No especificada	Fracción insaponificable	Estimulación de la producción de colágeno, promotor de la reparación del cartilago		Christensen, M. et al.(2008)
No especificada		Necrosis selectiva del epitelio de glándulas mamarias	Persina Acetogeninas	

4.10.4 Análisis de fenoles

Extracción

Entre los métodos usuales de extracción de estos compuestos se encuentran:

- Extracción con disolventes: partición líquido-líquido, extracción Soxhlet.
Son técnicas exhaustivas que requieren una gran cantidad de disolventes, se basan en la migración de los componentes de una matriz de acuerdo a la polaridad
- Extracción en fase sólida: SPE
La tendencia actual es en favor de estas técnicas ya que consumen una mínima cantidad de disolventes y se ha observado que hay un mayor factor de enriquecimiento de la muestra
- Extracción con fluidos supercríticos
- Extracción con ultrasonido
- Extracción con microondas
- Cromatografía contracorriente de alta velocidad (HSCCC)

Cuantificación

El método de Folin-Ciocalteu es un método económico de espectrofotometría UV-Vis (Blainski, Cristiny & Palazzo, 2013) que permite caracterizar y estandarizar muestras vegetales. Es un método que surgió para el análisis de proteínas pero que se popularizó en la determinación de polifenoles en vinos, es uno de los métodos más utilizados. En este los polifenoles reaccionan con un agente oxidante específico que consiste en complejo de fosfomolibdato-fosfotungstenato, en medio básico, la disociación de un protón del fenol origina un ión que reduce al reactivo de Folin-Ciocalteu en un complejo colorido azul intenso independiente de la estructura del fenol y que tiene una absorción de luz en la región del ultravioleta y visible máxima en una longitud de onda entre 745-750 nm (Prior et al, 2005).

4.10.5 Actividad antioxidante

Generalidades

La actividad antioxidante corresponde a la cinética de una reacción entre el antioxidante y el prooxidante. Los antioxidantes pueden actuar de dos formas; ya sea rompiendo las

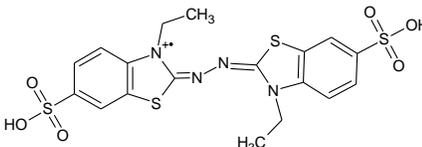
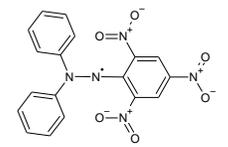
cadena, o retardando la velocidad de la reacción por lo que se pueden clasificar según su mecanismo de acción como (Torres et al, 2016):

- 1) Inhibidores de la iniciación (Preventivos)
 - a) Inactivadores de metales
 - b) Agentes quelantes
 - c) Estabilizadores UV (absorben la radiación UV)
 - d) Destruedores de hidroperóxidos (agentes reductores que estabilizan los hidroperóxidos)
- 2) Inhibidores de la propagación- Se trata de compuestos con grupos donadores de electrones, o grupos arilo que deslocalizan los electrones no apareados de los radicales intermediarios.

4.10.7 Determinación de actividad antioxidante por los métodos ABTS y DPPH

Para determinar la actividad antioxidante de una molécula de la cual se sospecha poseé dicha actividad, se le hace reaccionar con uno o varios radicales y se fija un tiempo para que ocurra la reacción de oxidación, la **Tabla 4** resume las características de dos de los métodos más comunes para determinar actividad antioxidante.

Tabla 4 Métodos ABTS y DPPH de determinación de actividad antioxidante.

Características	ABTS	DPPH
Nombre	2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico)	1,1-difenil-2-picrilhidrazilo
Tipo de radical	Catión radical (ABTS ^{•+})	Radical estable (DPPH [•])
Solubilidad	Catión hidrofílico y lipofílico	Radical ligeramente lipofílico
λ_{\max} de absorción	734 nm	519 nm
Mecanismo de acción	Inhibición de radicales	Remoción de radicales
Evidencias de acción	Decoloración de verde a incoloro	Cambio en coloración morado a amarillo pálido
Estructura		

En general estas técnicas se adiciona el antioxidante y se mezcla con el radical, seguido al tiempo de agitación se mide la caída de absorbancia por periodos de tiempo determinados, estas técnicas tienden a favorecer a los fenoles.

De acuerdo con Vargas y Obaya (2005) al estudiar una reacción se debe establecer un pseudo orden de esta para cada reactivo por lo cual se emplean las siguientes ecuaciones (**Tabla 5**) de rapidez que permiten determinar el orden de reacción y conocer más a cerca del sistema en cuestión.

Tabla 5. Ecuaciones de la Ley de rapidez de reacción para los diferentes órdenes.

Orden	Ley de rapidez	Forma integrada
0	$\frac{dx}{dt} = k$	$x = kt$
1	$\frac{dx}{dt} = k[A]$	$kt = \ln \frac{A_0}{A_0 - x}$
2	$\frac{dx}{dt} = k[A]^2$	$kt = \frac{x}{A_0(A_0 - x)}$

Las reacciones con los radicales son reacciones controladas por el tipo de mecanismo y por el acceso estérico al radical, se ha observado que los compuesto multifenólicos tardan más en reaccionar, se cree que es el tiempo que le toma a la molécula reorientarse hacia el centro reactivo del radical (Laattanzion et al., 2008)

4.10.8 Evaluación de la capacidad antioxidante

La evaluación de la capacidad antioxidante se realiza mediante pruebas que pretenden medir la capacidad de los antioxidantes para inhibir o remover radicales, se reconoce que hay dos mecanismos por los cuales ocurre la defensa antioxidante: SET(single electron transfer) y HAT (Hydrogen atom transfer), las curvas de absorbancia en el tiempo, permiten saber el mecanismo que sigue un antioxidante, aunque existe evidencia de que ambos mecanismos pueden ocurrir simultáneamente, el mecanismo dominante es determinado por la estructura y propiedades del antioxidante(Prior et al.,2005).

Mecanismo HAT

El mecanismo de transferencia de un átomo de hidrógeno ocurre mediante la transferencia de protones del antioxidante hacia el radical. El radical remueve un protón del antioxidante y este se vuelve un radical.



ROO[•] = Radical peroxilo, **AH** = Antioxidante, **PheOH** = Polifenol

Es un mecanismo más lento por la difusión, a diferencia del mecanismo de transferencia de un electrón (SET), es independiente del pH, aunque es inhibida por disolventes que forman puentes de hidrógeno.

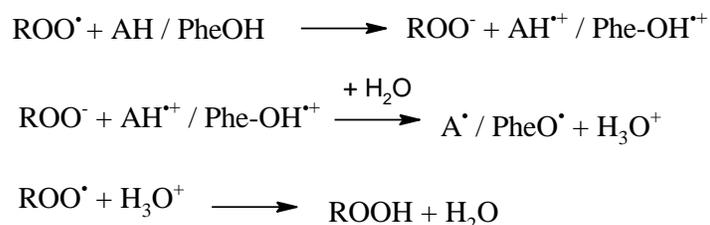
De acuerdo con Foti et al. (2008) la abstracción de protones de los fenoles ocurre por cuatro mecanismos diferentes:

- PCET (Proton-coupled electron transfer)
- SPLET (Sequential Proton-Loss electron transfer)
- ET-PT (Electron transfer Proton Loss)

De estos mecanismos, el más común es el PCET, se considera que la oxidación del fenol antioxidante por el radical forma un complejo de pretransición con su grupo hidroxilo y el par solitario del radical, posteriormente el protón se transfiere al par solitario del radical, de nueva cuenta se forma un complejo con este hidrógeno favoreciendo la reacción por HAT, ya que el oxígeno del fenol y el centro del radical se aproximan. Al tener una barrera para la reacción más pequeña, permite que ocurra efecto túnel entre el protón y el electrón del radical, la protección estérica de los fenoles tiende a disminuir la probabilidad de que la reacción ocurra por este mecanismo (Foti et al., 2008).

Mecanismo SET

El mecanismo SET detecta la habilidad de un antioxidante para reducir cualquier compuesto; metales, carbonilos y radicales. Se basa en la transferencia de un electrón del antioxidante hacia el radical, la transferencia ocurre con un electrón del nucleófilo al sustrato, produciendo un catión radical.



ROO[•] = Radical peroxilo, **AH** = Antioxidante, **PheOH** = Polifenol

Las reacciones que suceden por mecanismo SET son muy rápidas y no controladas por fenómenos de difusión, a diferencia del mecanismo HAT es dependiente del pH, ya que su reactividad se basa en el potencial de ionización y deprotonación de los grupos funcionales del antioxidante (Prior et al., 2005), aunque son inhibidas por moléculas que tienen muchos anillos.

Aunque se considera que el método DPPH ocurre por el mecanismo SET, la evidencia ha mostrado que en realidad se trata de un mecanismo mixto SET y HAT (Foti et al., 2008), el método ABTS ocurre por mecanismo SET.

4.11 Espectroscopía de Infrarrojo

Generalidades

La espectroscopía de infrarrojo se basa en la absorción de radiación infrarroja por parte de las moléculas; al ser radiadas las moléculas convierten esta energía radiante en energía rotacional ($<100\text{cm}^{-1}$) o vibracional ($10000\text{-}100\text{cm}^{-1}$) dependiendo de la frecuencia (Silverstein & Webster, 1998).

La sección media del infrarrojo ($4000\text{-}400\text{cm}^{-1}$) se divide ordinariamente en cuatro regiones (Stuart, 2004):

- $4000\text{-}2500\text{cm}^{-1}$ Región de estiramiento X-H
- $2500\text{-}2000\text{cm}^{-1}$ Triple enlace
- $2000\text{-}1500\text{cm}^{-1}$ Doble enlace
- $1500\text{-}600\text{cm}^{-1}$ Huella digital

En la región del infrarrojo cercano ($13000\text{-}4000\text{cm}^{-1}$) se encuentran las combinaciones de las bandas fundamentales de estiramiento y los sobretonos, se da información sobre moléculas con átomos pesados, torsiones moleculares y estructuras cristalinas.

La absorción es cuantizada y aparecen los espectros como líneas en el caso de la energía rotacional, mientras que en el caso de la energía vibracional los espectros aparecen como bandas ya que cada cambio vibracional es acompañado de cambios rotacionales. La frecuencia de la absorción depende de los enlaces y la geometría de los átomos, por lo tanto, los espectros infrarrojos son característicos de cada molécula (Silverstein, & Webster, 1998).

Espectroscopia de infrarrojo en el fruto del aguacate.

En el fruto del aguacate y sus derivados, la espectroscopía de infrarrojo se ha utilizado como una herramienta simple, rápida y poco costosa para detectar adulteraciones en aceite de aguacate, obteniendo de esta forma una huella que permite autenticar el aceite e identificar adulteraciones. (Quiñónes-Islas, Meza-Márquez, Osorio-Revilla y Gallardo-Velazquez, 2013)

En la **Figura 2** se muestra es espectro de infrarrojo de la pulpa, cáscara y aceite de aguacate ecuatoriano.

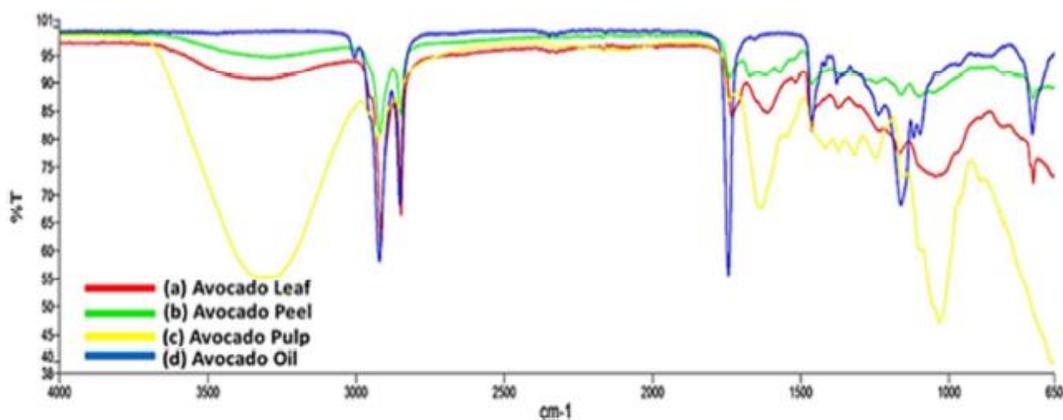


Figura 2 Espectros de infrarrojo de hoja, cáscara, pulpa y aceite de aguacate de Ecuador.

Nota: Obtenido de Kumar y Cumbal (2016). [Figure. FTIR Spectrum of Avocado (a) leaf, (b) peel, (c) pulp and (d) oil]

De acuerdo con Kumar y Cumbal (2016) los espectros infrarrojos obtenidos reflejan principalmente la presencia de lípidos y flavonoides.

Preparación de la muestra

Los espectrómetros de infrarrojo equipados con la tecnología ATR requieren muy poca preparación de la muestra, las muestras líquidas pueden colocarse directamente en el prisma por medio de una placa, de igual forma en el caso de las muestras sólidas se pueden colocar directamente aunque se prefiere que estas mantengan un contacto adecuado con el cristal refractivo para garantizar una lectura adecuada (Perkin Elmer, 2005).

Análisis

Anteriormente se utilizaban instrumentos que contenían un elemento dispersivo, por ejemplo, prismas de cloruro de sodio, para este tipo de instrumentos, la dispersión ocurre cuando la radiación de la fuente es colimada en el elemento dispersivo sobre la muestra y la radiación es reflejada de vuelta hacia el detector, la desventaja de este tipo de instrumentos es la poca sensibilidad que tienen.

Actualmente se prefiere el uso de instrumentos por transformada de Fourier, que es el método matemático mediante el que se resuelve el interferograma para dar un espectro en el dominio de la frecuencia, el método se basa en la idea de que la interferencia de la radiación de dos rayos da un interferograma que es una señal producida como función del cambio de longitud de paso entre dos rayos, la radiación pasa a un interferómetro, seguido a esto a la muestra y después al detector.

4.12 Generación de residuos agrícolas y alternativas

La industria agrícola es generadora de grandes cantidades de residuos (Costa, et al., 2016), mismo que en muchas ocasiones no tienen ningún tipo de tratamiento y por desconocimiento los productores optan por incinerarlos, realizar compostas o incluso dejarlos que se descompongan (Vijayalaxmi, Jayalakshimi & Sreeramulu, 2014), sin embargo, existen numerosas alternativas y casos de éxito en el aprovechamiento de residuos de producción. El uso de residuos agroindustriales permite agregar valor a los productos, además de que económicamente es una alternativa atractiva (Djilas, Canadanović-Brunet & Četković, 2009), estos residuos son fuente de azúcar, fibra, minerales, proteínas y biocompuestos cuya actividad puede ser de interés (Chow, 2008).

En otros cultivos se han reportado casos de éxito que sustentan la utilización de residuos agrícolas para generar productos que agregan valor agregado a la producción primaria, la **Tabla 6** reúne algunos de estos casos.

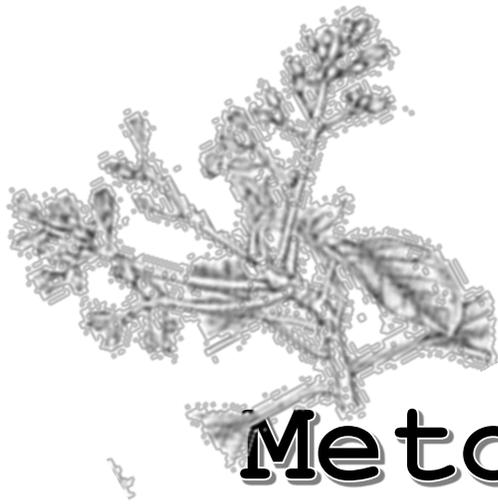
Tabla 6 Casos de éxito en el aprovechamiento de residuos de producción

Fruto	Principal Uso comercial	Actividad/ Compuestos de interés	Usos	Referencias
Granada	Consumo en fresco y jugo	-Propiedades fungicidas en extractos de cáscara. -Aumento de vida de anaquel de alimentos	-Supositorios, aplicaciones cosméticas - Conservador	Endo, Cortez, Ueda-Nakamura, Nakamura & Dias, 2010 Singh, Murthy & Jayaprakasha, 2002
Uva	75 % elaboración de vino	-Derivados con alta actividad antioxidante y concentración de flavonoides	Polifenoles con fines farmacéuticos	Pedroza, Carmona, Salinas & Zalacuin, 2011
Mango	Puré, néctar, dulces	-Pectinas, celulosa, lípidos, proteínas, polifenoles y carotenos	-Crema antibacterial y antitumoral -Ingrediente funcional de galletas	Masibo & He, 2008 El-Faham, Mohsen, Ashom, Sharaf & Zacky, 2016),
Coco	Elaboración de bebidas, uso de fibras en tapicería y alfombras	-Catequina, epicatequina, taninos y flavonoides -Actividad analgésica, antiinflamatoria, antimicrobiana y antioxidante	-Colorantes a partir de los residuos de epicarpio -Anticorrosivo a partir de aceite para proteger oleoductos	-Lima et al., 2015 Akhler, Zaman, Umar, Ali & Jalid, 2010 - Universidad Nacional Autónoma de México [UNAM], 2011

Para el caso del aguacate sus usos medicinales se conocen desde la época prehispánica, sin embargo, los avances en el desarrollo de aplicaciones de subresiduos de este fruto, son recientes, algunos como el mencionado por Bahaumik, et al. (2014) quien utilizó la semilla de aguacate como auxiliar en la remoción de Cr(VI) en aguas residuales, otras aplicaciones más enfocadas al área de los alimentos mencionan el uso de extractos de semilla de

aguacate como conservador de carne de cerdo (Weiss, Gibis, Schuh & Salminen, 2010), y como antioxidante en carne de res (Segovia, Peiró, Gallego, Mohd & Almajano, 2014) observando que tenía un efecto similar a los antioxidantes conocidos, Incluso se ha planteado utilizar los residuos de semilla como fuente de colorantes (Dabas, Elias, Lambert & Ziegler, 2011) . En México existe actualmente una planta procesadora de semilla de aguacate de la cual se obtiene un biopolímero utilizado para fabricar diferentes artículos como bolsas y utensilios de cocina (Fresh Plaza, 2017)

La utilización de residuos de la industria agrícola impacta positivamente a las comunidades rurales, generando empleo, fomentando el consumo de productos locales y combatiendo el desperdicio de alimentos, cumpliendo de esa forma objetivos de sustentabilidad planteados por la OMS.



Metodología Experimental

V Metodología experimental

Materiales y reactivos

Reactivos

Los reactivos utilizados fueron: éter de petróleo y ácido clorhídrico grado reactivo de Bell, solución del reactivo de Folin-Ciocalteu, carbonato de sodio, 1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH), ácido 2,2-azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico) (ABTS), persulfato de potasio, solución de metóxido de sodio 0.5 N, fenolftaleína, trifluoruro de boro, sulfato de sodio anhídrido y hexano todos de grado reactivo de Sigma-Aldrich, metanol, acetona y hexano grado HPLC, agua Milli Q de Sigma-Aldrich, como estándares; ácido gálico, ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico (Trolox), mezcla de 37 ácidos grasos CRM47885 de Sigma y ácido behénico estándar de Fluka Analytical.

Los gases utilizados fueron: nitrógeno grado HPLC de INFRA, nitrógeno, hidrógeno y aire de ultra alta pureza de INFRA

Instrumentación y equipo

Para la determinación de textura se utilizó Texturómetro manual TPM-GY1-24, la muestra se molió en un molino de aspas, la humedad se determinó en una estufa de Secado Binder, y una balanza Analítica Sartorius TE214S precisión de 0.0001 g, la extracción de la grasa se realizó mediante un equipo Soxhlet Labline Multi-unit extraction Heater.

La obtención de los extractos metanólicos se llevó a cabo utilizando el siguiente equipo: agitador oscilatorio Orbishaker Benchmark, centrífuga refrigerada Sigma 3-16KL. Para la determinación de fenoles totales y actividad antioxidante las lecturas se realizaron en un espectrofotómetro Multiskan go Thermo Scientific con lector de microplacas, los espectros de infrarrojo de los extractos se determinaron con un espectrómetro de infrarrojo Perkin Elmer Spectrum 1000 FT-IR con ATR.

La derivatización de ácidos grasos requirió una parrilla de calentamiento Thermo Scientific, el perfil de ácidos grasos se determinó utilizando un cromatógrafo de gases FID Agilent Technologies 6820 GC System con una columna capilar de (cianopropil)arilpolisiloxano; HP-88 de 100m, (diámetro 0.25mm, y 0.20µm de espesor) de Agilent Technologies.

Adicionalmente se utilizó material de vidrio: vasos de precipitados, matraces volumétricos, pipetas graduadas, pipetas Pasteur, probetas, embudos, desecador Pyrex, botellas ámbar, termómetro de -20 a 150 °C de Brannan, tubos de ensayo con tapa de teflón, viales con tapa de rosca de 2mL de tipo 33 y tipo 51 COE vidrio de borosilicato de Agilent Technologies, jeringa para cromatografía de $5 \pm 0.1 \mu\text{L}$ de Agilent Technologies.

Otros incluyen: charolas de aluminio, pinzas, bolsas de polietileno, tubos de centrifuga con tapa de 50 mL, tubos Eppendorf de 2mL, micropipetas de 1 hasta 2000 μL Biopette, Thermo Scientific y Fisher, así como puntas para éstas, microplaca con 96 pocillos y fondo U, celda de cuarzo de 1 cm.

Métodos

5.1 Acopio de material vegetal

Las muestras vegetales que se utilizaron en este proyecto provienen del estado de Jalisco, municipio de Zapotlán el Grande, se realizaron cuatro muestreos de aguacate (*Persea americana* Variedad Hass), las muestras provienen de huertas certificadas proporcionadas por la empresa empacadora establecida “D’Eliseos”.

La colecta se hizo en la empacadora durante la temporada de recolección de los frutos en Jalisco, que comprende los periodos de junio a septiembre y diciembre asegurando que estos hubiesen alcanzado la madurez fisiológica, con un contenido de materia seca alrededor del 21.5 %.

Los frutos se encontraban clasificados en cuatro clases (A-D), a excepción de los frutos de la clase D, los aguacates obtenidos eran aptos para consumo humano de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana **NMX-FF-016-SCFI-2006** (Diario Oficial de la Federación, 21 de julio del 2016) conforme a la proporción y tipo de daños visibles en la superficie tales como rozaduras y roña (*Figuras 2 y 3*).

Fueron transportados al Centro Universitario del Sur de la Universidad de Guadalajara en contenedores ventilados y separados de acuerdo a su clase, en un lapso no mayor a una hora.

Por las características biológicas del fruto, no madura en el árbol, se permitió que alcanzara la madurez, manteniéndolo entre 6 y 10 días a temperatura ambiente bajo condiciones de laboratorio. A diario fueron supervisados visualmente para valorar los cambios en la coloración que fue de verde a negro o púrpura. La valoración instrumental de la textura fue por medio de la prueba de penetración.



Figura 2 Aguacates Hass seleccionados en el empaque de acuerdo al tipo de daños superficiales.



Figura 3 Aguacates clasificados instrumentalmente como “Clase B” de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana.

5.2 Preparación de las muestras

Una vez que se determinó que los frutos eran aptos para su procesamiento se pesó cada pieza, separando la pulpa de la semilla y la cáscara de forma manual, después se pesó cada parte por separado. La semilla y cáscara frescas fueron molidas por separado en un molino de aspas hasta homogeneizar, notando que en el caso de la cáscara, se formó una pasta verdosa, mientras que la semilla se obtuvo un polvo de olor característico y coloración blanquecina, misma que se tornó roja al contacto con el aire, ambas fracciones se resguardaron de la luz y el aire en bolsas de polietileno almacenadas a 4 °C.

5.3 Textura

Se determinó la textura en cada fruto, mediante un texturómetro manual.

5.4 Determinación de humedad

Se determinó el contenido de humedad en las muestras mediante un método gravimétrico estático (Association of Official Analytical Chemists [AOAC], 1990); colocando 10 ± 0.01 g de muestra en una estufa de secado Binder a 100 ± 5 °C durante 24 h, pesando

nuevamente la muestra hasta obtener peso constante en una balanza analítica, se realizó este procedimiento por triplicado para cada una de las muestras. La diferencia en el peso de la charola antes y después del secado constituye el contenido de humedad que se expresan como porcentaje.

5.5 Determinación del contenido de grasa

La extracción se realizó en un equipo Soxhlet (**Figura 4**), con éter de petróleo grado reactivo por 5 h. Se pesó el residuo final del matraz una vez evaporado el disolvente (AOAC, 1990), se optó por la extracción Soxhlet, ya que se considera que las semillas con un contenido de grasa de menos del 2 %, como es el caso de la semilla de aguacate, dan un aceite residual (Bockisch, 1998) y es preferible conseguir un mejor rendimiento de extracción, utilizando un método exhaustivo. Los resultados se calcularon por diferencia de peso y se expresaron como porcentaje.



Figura 4 Extracción Soxhlet con muestras de cáscara y semillas de aguacate Hass.

5.6 Estudio de fenoles y actividad antioxidante

5.6.1 Preparación de extractos metanólicos

Los extractos se elaboraron de acuerdo al procedimiento de Saura-Calixto y Goñi (2006), se pesaron 2 g de muestra molida en una balanza analítica, colocándolos en un tubo de centrífuga protegido de la luz (Montedoro, Servili, Baldioni, & Miniati, 1992).

La extracción se llevó a cabo con metanol acidificado con HCl a pH 5 lo anterior debido a que se buscaba obtener los fenoles polares y que la solubilidad depende de la polaridad del disolvente utilizado, ya que de acuerdo con Hurtado, Carrasco y Fernández (2011) da un mejor perfil de recuperación y extractos más limpios, se agregó HCl ya que los fenoles pueden encontrarse unidos a carbohidratos y proteínas por lo que es necesario realizar una hidrólisis ácida (Viñas & Campillo, 2008), seguido a esto, se agitó el tubo a 200 rpm por una hora en un agitador oscilatorio.

Posteriormente se centrifugó a 4000 rpm a temperatura ambiente por quince minutos en una centrífuga refrigerada.

Se recogió el sobrenadante en un matraz aforado de 10mL protegido de la luz. La pastilla fue sometida al procedimiento ya descrito, con la diferencia de que se utilizó acetona al 70% en lugar de metanol. Se juntó el sobrenadante con el obtenido anteriormente y se aforó a 10 mL con metanol grado HPLC, se puede observar las diferencias entre extractos en la **Figura 5**



Figura 5 Extractos metanólicos de cáscara (verdes) y semilla (naranjas) de aguacate variedad Hass del Sur de Jalisco.

5.6.2 Determinación de fenoles totales.

El contenido o concentración de fenoles totales (CFT) se determinó en los extractos metanólicos mediante una adaptación a microescala del método Folin-Ciocalteu (Waterman & Mole, 1994), publicada por Arnous, Mackris, & Kefalas (2002). Los extractos metanólicos fueron diluidos de forma serial de 2 hasta 50 veces según fuera necesario con metanol, posteriormente se tomó una alícuota de 10 μL y se colocaron en 790 μL de agua MilliQ junto con 50 μL de reactivo de Folin-Ciocalteu, posteriormente se adicionaron 150 μL de carbonato de sodio al 20 %, se agitó y se incubó en la obscuridad por 1 h 30 min.

Concluido el periodo de incubación, se tomaron tres alícuotas de cada muestra colocándolas en una microplaca de 96 pozos junto con la curva de calibración para su lectura en el espectrofotómetro a 750 nm.

La cuantificación espectrofotométrica de los complejos coloridos, se realizó por medio de una curva de calibración de ácido gálico, ya que el ácido gálico por su estructura es utilizado como estándar analítico, y es el de uso más extendido. La curva de calibración se generó a partir de soluciones de ácido gálico de concentraciones de 0.5 a 7.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$, el blanco de calibración fue una solución diluida de carbonato de sodio al 20% en agua MilliQ.

La concentración de fenoles totales se determinó por interpolación en la curva de calibración, expresando los resultados como mg equivalentes de ácido gálico por gramo de muestra húmeda (mg EAG/g).

5.6.3 Determinación de actividad antioxidante

Para determinar la capacidad antioxidante se siguieron los siguientes métodos:

El método 1,1-difenil-2-picrilhidrazina (DPPH) conforme al propuesto por Brand-Williams, Cuvelier y Berset (1995) con modificaciones; se evaluó la actividad antioxidante total de los extractos por la disminución de la absorbancia del radical a 515 nm, el DPPH[•] es un radical estable de coloración morada que al reaccionar pierde coloración hasta volverse incoloro (Apak et al., 2013).

La curva de calibración se generó a partir de soluciones de Trolox el cual se utiliza como estándar debido a que es un análogo de vitamina E y funciona como antioxidante de

referencia, de concentraciones de 0.025 a 0.8 mM, el blanco consistió en 200 μ L de Trolox y 20 μ L de metanol.

A diferencia del método de Folin-Ciocalteu, en esta técnica la reacción se realiza en la microplaca, ya que, aunque el radical es estable, este es sensible a las condiciones ambientales, por lo que una vez que se tomaron 20 μ L de muestra por triplicado y se depositaron en el pocillo, se adicionaron inmediatamente 200 μ L de una solución de DPPH \cdot 0.15 mM. Se leyeron los cambios en la absorbancia en un espectrofotómetro UV-Vis con lector de microplaca Multiskan go Termo Scientific, por 30 min con un periodo de agitación de 30 s, las lecturas se realizaron en 15 ciclos.

Se graficó el cambio en la absorbancia en cada muestra y se calculó el porcentaje de inhibición del radical con respecto a la absorbancia del blanco, la capacidad antioxidante se determinó por interpolación en la curva de calibración de Trolox. Los resultados se expresaron como μ mol Eq. Trolox/g de muestra en base húmeda.

Método ABTS

La determinación de la capacidad antioxidante por el método ABTS se realizó de acuerdo al método propuesto por Pellegrini, Re, Yang y Rice-Evans. (1999) midiendo, en este caso, la reducción de la absorbancia del radical.

Previamente se preparó una solución de ABTS $^{*+}$ 7 mM colocando ABTS junto con persulfato de potasio 2.4 mM en 10 mL de agua destilada, el sistema se dejó agitando por 16 h a temperatura ambiente, posteriormente y antes de su uso se ajustó la absorbancia inicial de esta solución a 0.70 ± 0.01 con metanol.

La curva de calibración se realizó con una solución de Trolox de la misma forma que para el método DPPH, llenando la placa con la misma cantidad, como se puede apreciar en la **Figura 6**, se agregaron 200 μ L de ABTS $^{*+}$, la reacción se siguió por 30 min en un ciclo de 15 lecturas. El blanco consistió en 20 μ L de metanol grado HPLC y 200 μ L de ABTS $^{*+}$.

Al igual que en el método anterior, se calculó el porcentaje de inhibición respecto al blanco, se interpoló en la curva de calibración, el resultado se expresó como μ mol Eq. Trolox/g de muestra en base húmeda.

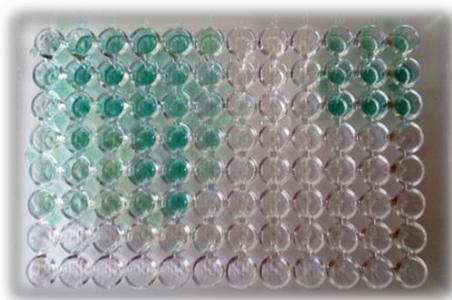


Figura 6 Microplaca llena con ABTS ^{•+} y extractos metanólicos, la pérdida del color implica rápida remoción del radical.

5.7 Determinación de espectros infrarrojo

Los espectros infrarrojos de los extractos metanólicos de cáscara y semilla de aguacate Hass se obtuvieron, evaporando el disolvente. Las muestras se leyeron en estado sólido en un espectrómetro de IR equipado con ATR, leyendo de 400 cm⁻¹ a 4000 cm⁻¹.

5.8 Estudio de ácidos grasos

5.8.1 Derivatización de ácidos grasos

La técnica estándar para el análisis de ácidos grasos es la cromatografía de gases (Requejo-Tapia, et al., 1999), sin embargo el análisis de ácidos grasos por esta técnica requiere de la formación de un derivado, éstos se forman al reaccionar el analito con otro reactivo para cambiar las propiedades físicas y químicas del analito, ya sea para facilitar la detección, cambiar la polaridad, aumentar la volatilidad o estabilizar el analito (Majors, 2013) en este caso se decidió preparar los metilésteres de los ácidos grasos contenidos en el aceite para mejorar la volatilidad. Para ello se realizó una transesterificación en dos pasos.

Como se puede observar en la **Figura 7**, en el primer paso se obtiene el metiléster de los ácidos grasos de acil lípidos, por reacción con el metóxido de sodio en medio básico, en el segundo paso, con exceso de alcohol y medio ácido dado por el catalizador, se forman los metilésteres de los ácidos grasos libres.

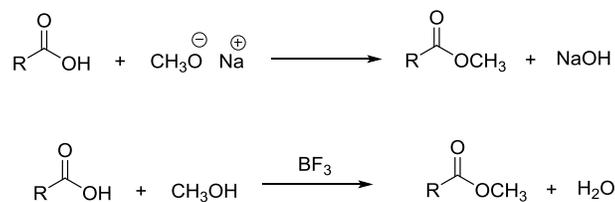


Figura 7 Derivatización de los ácidos grasos contenidos en la grasa de subproductos de aguacate mediante metilación completa con metóxido de sodio/metanol.

En este trabajo se siguió el método propuesto en el reglamento (CE) No. 796/2002 de 15 de mayo de 2002, con algunas modificaciones; la grasa obtenida, se diluyó con 2000 μL de hexano, para después tomar una alícuota con una concentración aproximada de 37 mg. Se adicionaron 118 μL de éster metílico de ácido behénico como estándar interno, seguido a esto se evaporó el excedente de hexano con una corriente de nitrógeno.

La esterificación se realizó con 2.5 mL de metóxido de sodio en metanol a una concentración de 0.5 N, colocándose en Baño María a punto de ebullición por 20 min, posteriormente se agregaron dos gotas de fenolftaleína y trifluoruro de boro en metanol al 14% como catalizador.

Transcurrido el tiempo de reacción, se adicionaron 3 mL de hexano y se hizo una extracción; se agitó por 10 s y se recolectó la fase orgánica, transfiriéndola a un tubo con sulfato de sodio anhidro.

5.8.2 Determinación de perfil de ácidos grasos

Para poder definir la aplicación de una grasa o aceite es necesario conocer el contenido de ácidos grasos en la muestra, por lo que se realizó el perfil de ácidos grasos para la grasa de la semilla y el aceite de la cáscara,

La determinación del perfil de los principales ácidos grasos en aceite, se realizó en un cromatógrafo de gases con detector de ionización de flama FID (**Figura 8**).

Se inyectaron 1 μL de muestra metilada, el gas portador fue N_2 con una velocidad de flujo de 1.2mL/min con un sistema de inyección de división 5:1.

La temperatura del inyector se mantuvo en 230 $^{\circ}\text{C}$ y del detector en 250 $^{\circ}\text{C}$, en un programa de 70 min, de las siguientes características: inicio en 60 $^{\circ}\text{C}$ seguido de un incremento de 15 $^{\circ}\text{C}$ hasta 170 $^{\circ}\text{C}$, se mantuvo la temperatura por 3 minutos y se incrementó hasta 230 $^{\circ}\text{C}$ en intervalos de 2 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$, finalmente se mantuvo por 26 min a 230 $^{\circ}\text{C}$.



Figura 8 Cromatógrafo de gases con detector FID utilizado en la determinación de ácidos grasos

La identificación de los ácidos grasos se realizó comparando los cromatogramas y los tiempos de retención de las muestras con los de una solución patrón de 37 ácidos grasos FAME mix CRM47885 de Sigma. Se cuantificó midiendo el área bajo la curva, posteriormente se interpoló en la curva de calibración correspondiente a cada uno de los 37 ácidos grasos, los resultados se expresaron como porcentaje de determinado ácido graso en la muestra, la **Tabla 7** muestra las ecuaciones obtenidas de las curvas de calibración de cada ácido graso y su coeficiente de determinación.

5.9 Análisis estadístico

Se les aplicó a los datos un análisis de varianza simple (ANOVA) y pruebas de rango múltiple (Tukey) con una $p \leq 0.05$ con el programa STATGRAPHICS V15.1 para probar si existían diferencias significativas entre clases y fracciones para cada variable estudiada.

Tabla 7 Ecuaciones de las curvas de calibración de 37 ácidos grasos con los respectivos coeficientes de determinación

Metiléster de ácido	Ecuación de la recta	R ²
Butírico	$y = 1690,8x - 26,868$	0.9899
Hexanoico	$y = 2122,7x - 45,572$	0.9958
Octanoico	$y = 2283,2x - 32,131$	0.9921
Decanoico	$y = 2388,1x - 28,513$	0.9922
Undecanoico	$y = 0,0002x + 0,0064$	0.9922
Laurico	$y = 2369,7x - 26,728$	0.9927
Tridecanoico	$y = 2412,4x - 13,422$	0.9933
Mirístico	$y = 2433,1x - 26,967$	0.9941
Miristoleico	$y = 2378,4x - 13,166$	0.9941
Pentadecanoico	$y = 2436,3x - 13,325$	0.995
Cis-10-pentadecanoico	$y = 2373,5x - 13,17$	0.9948
Palmitico	$y = 2383,3x - 38,648$	0.9957
Palmitoleico	$y = 2464,4x - 12,916$	0.9955
Heptadecanoico	$y = 2296,3x - 9,6202$	0.996
Cis-10-heptadecanoico	$y = 2403x - 12,516$	0.9959
Estearico	$y = 2393,1x - 24,556$	0.9962
Trans-9-elaidico	$y = 2377,2x - 12,363$	0.996
Cis-9-oleico	$y = 2363,6x - 24,233$	0.9961
Linolelaidico	$y = 2322,9x - 11,629$	0.9961
Linoleico	$y = 2303,1x - 11,948$	0.996
Araquidico	$y = 2347,3x - 24,248$	0.9959
Γ-linoleico	$y = 2304,9x - 11,778$	0.996
Cis-11-eicosenoico	$y = 2320,2x - 11,766$	0.996
Linolenico	$y = 2348,8x - 11,867$	0.9961
Heneicosanoico	$y = 2340,4x - 12,162$	0.9954
Cis-11,14-eicosadienoico	$y = 2274,8x - 11,701$	0.9959
Behenico	$y = 2299,1x - 23,662$	0.9946
Cis-8,11,14-eicosatrienoico	$y = 2148x - 11,131$	0.996
Erucico	$y = 2060,5x - 11,88$	0.9959
Cis-11,14,17-eicosatrienoico	$y = 2430x - 10,477$	0.9945
Tricosanoico	$y = 2158,1x - 10,804$	0.9959
Cis-5,8,11,14-eicosatetraenoico	$y = 2221,6x - 11,481$	0.9936
Cis-15,16-docosadienoico	$y = 2233,9x - 10,324$	0.9949
Lignocerico	$y = 964,7x - 10,239$	0.9957
Cis-5,8,11,14,17-eicosapentanoico	$y = 4604,1x - 21,717$	0.9924
Nervonico	$y = 2174,5x - 11,241$	0.9925
Cis-4,7,10,13,16,19-docosahexaenoico	$y = 1936,3x - 16,04$	0.9972



Resultados y Discusión

VI Resultados y discusión

6.1 Textura

Los resultados de la valoración instrumental de la textura por medio de la prueba de penetración se detallan en la **Tabla 8** en donde se puede observar que fueron incluidos frutos de cada clase que alcanzaran valores de textura entre 2 ± 0.78 y 4.23 ± 0.49 kg/cm².

Tras el análisis estadístico se corroboró la ausencia de diferencia estadísticas significativas ($p \geq 0.05$) en esta característica que fue empleada como criterio de maduración del fruto (Manzano, 2016). Lo anterior indicó homogeneidad de la muestra y un estado óptimo en cuanto a la aptitud para la extracción de aceite de la pulpa. Esto permitió obtener las cáscaras y semillas como residuos de un proceso real.

Tabla 8 Textura de aguacates (*Persea americana*. Mill. var. Hass) del Sur de Jalisco de cuatro grados de clasificación comercial (n=10).

Clasificación Comercial	Textura (kg/cm ²)
A	$3.85 \pm 0.18^{a*}$
B	4.23 ± 0.49^a
C	3.92 ± 1.90^a
D	2.89 ± 0.78^a

*Los datos representan promedios y desviación estándar (n=10).

^a Promedios con diferentes superíndices son significativamente diferentes ($p \leq 0.05$).

6.2 Proporción de pulpa, cáscara y semilla.

En las muestras analizadas de las cuatro clases, la cáscara constituye, el $16.05 \pm 2.5\%$ en peso del fruto, mientras que la proporción de semilla alcanzó un $17.15 \pm 1.81 \%$, los datos para cada clase se agrupan en la **Tabla 9**. La proporción de pulpa es la fracción del fruto con mayor porcentaje en peso, con valores entre el 25.52 % (Clase C) y 70.94 % (Clase B). El análisis estadístico mostró que sólo existen diferencias significativas entre los resultados cuantificados en la pulpa; respecto a los de la cáscara y la semilla, no existen diferencias estadísticas entre estas últimas fracciones ($p \geq 0.05$). Al analizar los datos de acuerdo a la clase no se encontró diferencia, y aunque dentro de los grupos homogéneos la clase C

sobresale tanto en la proporción de la cáscara como en la pulpa, esta diferencia no es significativa ($p \geq 0.05$).

Tabla 9. Proporción de cáscara, semilla y pulpa, de aguacate (*Persea americana*. Mill.) var. Hass del Sur de Jalisco de cuatro grados de clasificación comercial (n=10).

Clasificación	Proporción (%)
Cáscara	
A	16.57 ±2.4* ^{ab}
B	13.49 ±1.4 ^a
C	19.42±6.1 ^c
D	14.72±4.0 ^{ab}
Semilla	
A	19.33±5.6 ^b
B	15.56±7.6 ^{ab}
C	17.95±6.1 ^{ab}
D	15.77±4.7 ^{ab}
Pulpa	
A	64.14±6.8 ^d
B	70.94±6.4 ^d
C	52.52±10.3 ^c
D	70.88±2.3 ^d

*Los datos representan promedios y desviación estándar (n=10).

^a Promedios con diferentes superíndices son significativamente diferentes ($p \leq 0.05$).

Las proporciones registradas en este estudio son similares a los porcentajes reportados por otros autores, como puede observarse en la **Tabla 10**.

Las diferencias en cuanto a proporción del peso fresco, que resultaron ser mayores que las obtenidas por otros autores se puede explicar por las condiciones del suelo y clima de la región, pues se ha observado que, en clima templado subhúmedo, como el de la región Sur de Jalisco, hay un aumento en el peso de la piel y testa del aguacate (Salazar-García, et al., 2011).

Tabla 10 Comparación de Proporción del fruto para aguacate Hass de diferentes orígenes

Fracción	Proporción del fruto (%)	Origen del fruto	Referencia
Cáscara	17	Florida	Wang, Bostic & Gu
Semilla	13.8		(2010)
Semilla	16	México	Ortiz-Moreno, Chamorro & Garduño (2005)
Cáscara	12.37	(Jalisco,	Salazar-García,
Testa	0.42	México)	Medina-Carillo &
Embrión	15.72		Álvarez-Bravo
Pulpa	60.30		(2016)
Cáscara Clase B	13.49 ±1.4		King (2018)
Semilla Clase B	15.56±7.6		
Pulpa Clase B	70.94±6.4		

6.3 Contenido de humedad, materia seca y grasa.

Tal y como se puede observar en la **Tabla 11**, las fracciones de los frutos estudiadas tienen un contenido de humedad en el rango 60.82 ± 6.7 y 72.54 ± 2.8 % encontrados en la semilla y cáscara de frutos de la clase A, respectivamente. En el caso de este parámetro las diferencias entre los valores en cada clase, no son significativas, sin embargo, entre las fracciones sí las hay, observándose un mayor contenido de humedad en la semilla ($p \geq 0.05$).

De acuerdo con los datos obtenidos, las fracciones con las que se trabajó corresponden a muestras con alto contenido de agua. En principio esto hablaría de frutos de buena calidad (Peschel et al., 2006), sin embargo, podría representar un obstáculo para la industrialización, ya que el incremento de los contenidos de humedad reduce la estabilidad química y microbiológica durante el almacenamiento e industrialización, lo que puede significar un aumento en costos para garantizar la integridad de la materia prima (Djilas, Canadanović-Brunet & Četković, 2009).

En el caso del contenido de materia seca (**Tabla 11**) se determinó que, de las cuatro categorías, la cáscara de los frutos de la clase C es la que alcanzó el mayor contenido

(31.37 ± 9.0%); mientras que en la semilla el valor máximo se cuantificó en las de aguacates de la clase A (39.17 ± 6.7%). En esta variable no se encontraron diferencias estadísticas ($p \leq 0.05$) entre las clases, aunque entre fracciones; la semilla tiene un mayor contenido de materia seca.

Tabla 11 Contenido de humedad, materia seca, y grasa en muestras de cáscara y semilla de aguacate Hass (*Persea americana* Mill.var Hass) del Sur de Jalisco.

Clasificación	Contenido de humedad (%) [*]	Contenido de materia seca (%)	Contenido de grasa (%)
Cáscara			
A	72.54 ± 2.8 ^a	27.45 ± 2.8 ^{ab}	1.19 ± 0.5 ^a
B	69.76 ± 5.7 ^a	30.23 ± 5.7 ^{ab}	0.77 ± 0.3 ^a
C	68.62 ± 9.0 ^a	31.37 ± 9.0 ^{ab}	1.32 ± 0.8 ^a
D	76.81 ± 1.0 ^a	23.18 ± 1.0 ^a	1.59 ± 0.1 ^a
Semilla			
A	60.82 ± 6.7 ^a	39.17 ± 6.7 ^c	1.61 ± 1.8 ^a
B	66.53 ± 8.2 ^a	33.46 ± 8.2 ^{abc}	0.45 ± 0.2 ^a
C	65.47 ± 11.6 ^a	34.52 ± 11.61 ^{bc}	0.54 ± 0.3 ^a
D	70.32 ± 5.4 ^a	29.67 ± 5.4 ^{abc}	0.55 ± 0.2 ^a

^{*}Los datos son promedios ± desviación estándar (n=4).

^{a-d} Promedios con diferentes superíndices son significativamente diferentes ($p \leq 0.05$).

Ramírez-Cortés, Caro-Velarde, Valdivia-Reynoso, Ramírez-Lozano, y Machuca-Sánchez, (2011) mencionan que la distribución de materia seca en las diferentes estructuras anatómicas de la planta responde a un mecanismo de fuente-demanda, por lo que la materia seca se acumulará en órganos sumidero que tienen elevados requerimientos nutrimentales, como es el fruto. La cantidad acumulada dependerá del metabolismo de la planta, canales de transporte y exposición a la luz (Peil & Gálvez, 2005). Por lo que valores similares indican condiciones nutricionales parecidas. En este estudio, los porcentajes más altos de materia seca podrían indicar que existe mayor demanda de nutrientes en la semilla que en la cáscara, lo que es congruente con la naturaleza fisiológica de la semilla como órgano de reserva de nutrientes y protección del embrión (de Franceso, 2000).

El porcentaje de materia seca en cáscara y semilla es mucho mayor que el que debe tener la pulpa cuando el aguacate alcanza la madurez, alrededor del 21 % (Yahia, & Woolf, 2011). Este parámetro en pulpa es uno de los más utilizados para determinar la madurez del fruto, ya que existe una correlación entre éste y el contenido de grasa (Cerdas, Montero & Díaz, 2006) y una relación inversa entre la segunda y el contenido de humedad. Sin embargo, no se conoce si en cáscara y semilla existe la misma relación descrita en el caso de la pulpa.

El contenido de grasa en general, tiende a ser mayor en cáscara que en semilla, aunque el máximo se encuentra en la clase A de la semilla (1.61 ± 1.8 %), mientras que el mínimo se cuantificó en la clase B de la misma fracción (0.45 ± 0.2 %). A pesar de que los valores del contenido de grasa sobresalieron en la cáscara, no hay diferencias significativas entre las clases y fracciones ($p \geq 0.05$). Las muestras estudiadas tienen un contenido mucho menor de grasa respecto a los resultados reportados por Wong, Requejo, Jackman y Woolf (2010) quienes refieren un 7 % en la cáscara y 2 % en la semilla. Gunstone (2004) menciona que ordinariamente, en la semilla se encuentra un 2 % ya que el aguacate es de los frutos que como la palma y el olivo tiene un alto contenido de lípidos concentrados principalmente en el mesocarpio (Chow, 2008), no sería extraño que el contenido de aceite sea menor en las otras fracciones.

6.4 Determinación de contenido de fenoles totales.

Los valores de la CFT cuantificados en las muestras (**Tabla 12**) oscilaron entre un máximo de 14.72 ± 4.7 mg EAG/g b.h en la clase D de la semilla y un mínimo en el extracto de la clase B de la misma fracción (4.90 ± 1.9 mg EAG/g b.h).

Los valores del contenido de fenoles en cáscara tomaron valores intermedios dentro del rango. Este parámetro mostró diferencias significativas entre las combinaciones de clases con fracciones ($p \leq 0.05$), pero al analizar ambas fracciones se observó que, la diferencia entre la semilla y la cáscara no es significativa ($p \geq 0.05$). Finalmente, es en la fracción de semilla en donde las clases mostraron diferencias significativas entre la clase D y el resto. Los valores del contenido de fenoles en cáscara no fueron diferentes entre las cuatro clases.

Tabla 12 Contenido de fenoles totales y actividad antioxidante por el método ABTS y DPPH para aguacate Hass (*Persea americana* Mill.) del Sur de Jalisco.

Clasificación comercial	Contenido de fenoles totales (mg Eq.Ac Gálico/g b.h.)
Cáscara	
A	5.56±3.0 ^{ab}
B	5.93±4.3 ^{ab}
C	9.80±1.9 ^{bc}
D	8.31±0.7 ^{abc}
Semilla	
A	10.50±2.6 ^{cd}
B	4.90±1.9 ^a
C	5.79±3.3 ^{ab}
D	14.72±4.7 ^d

*Los datos son promedios ± desviación estándar (n=4).

^{a-d} Promedios con diferentes superíndices son significativamente diferentes ($p \leq 0.05$)

En promedio el CFT para la semilla de aguacate Hass del Sur de Jalisco fue 8.97 ± 4.54 mg EAG, estos datos son similares a los reportados para aguacate Hass proveniente de Australia. Comparando los datos obtenidos para la clase A (5.56 ± 3.0 mg EAG) y B (5.93 ± 4.3 mg EAG) con el CFT de la cáscara de aguacate Hass proveniente del Faro, Portugal quienes reportan 6.79 mg EAG se encuentra que estos son similares. Por otra parte, la clase C (9.80 ± 1.9 mg EAG) coincide con los resultados reportados por Calderón-Oliver et al. (2016) para semilla de aguacate proveniente de la Central de Abastos en la Ciudad de México. En un estudio similar en Cd. Obregón, Sonora, donde se emplearon residuos de establecimientos de comida, se reportó un contenido de fenoles diez veces menor que los obtenidos en este estudio, para cáscara de aguacate Hass y hasta 1000 veces menor para la semilla (Chávez, 2011). Sin embargo, el contenido de fenoles determinado para cada clase resultó ser mucho menor que el reportado por Wang et al. (2010); 51.6 ± 1.6 para semilla y 12.6 ± 0.3 para cáscara de aguacate de Florida.

En los resultados obtenidos en este estudio se observó que la cáscara de la clase C (**Figura 9**), también conocida como “Roña”, presenta las CFT más elevadas del estudio. Por lo que

se infiere que estas elevadas concentraciones de fenoles en muestras con la presencia de “roña” están relacionadas con la presencia de esta enfermedad en la superficie de la cáscara. La roña es una enfermedad que consiste en daños superficiales característicos que se presentan como lesiones color café de aspecto de corcho de forma circular o irregular (Marroquín-Pimentel, 1999) causados principalmente por el hongo *Sphaceloma perseae* Jenk.

Es ampliamente conocido que el contenido de fenoles en una planta está condicionado por factores como la genética y el medio ambiente (Siracusa & Ruberto, 2014), estudios con diversas plantas han mostrado que ante condiciones de estrés hay una mayor activación de genes reguladores de mecanismos antioxidantes (Wang et al., 2008) y, específicamente en aguacate, se ha observado que al exponer al fruto por ejemplo a variaciones en las condiciones lumínicas, se producen una mayor cantidad de fenoles en la cáscara (Salazar-García et al., 2016). Aunque no hay estudios que relacionen directamente la presencia de roña con el contenido de polifenoles, Lattanzion et al. (2008) explican que, ante la presencia de patógenos como hongos, la respuesta de la planta es codificar proteínas que catalizan metabolitos de defensa.



Figura 9 Cáscara de aguacate clase C con roña en la superficie

De acuerdo con algunos autores, la semilla de aguacate Hass contiene los siguientes fenoles: catequinas, procianidinas (procianidina B2), antocianinas, taninos, ácido clorogénico (Beltrán, Padilla, Urias & Villanueva, 2014)

6.5 Actividad antioxidante por el método ABTS

Tabla 13 Contenido de fenoles totales y actividad antioxidante por el método ABTS y DPPH para aguacate Hass (*Persea americana* Mill.) del Sur de Jalisco.

Clasificación comercial	Capacidad antioxidante ABTS	Capacidad antioxidante DPPH
	($\mu\text{mol Eq. Trolox/g b.h.}$)	($\mu\text{mol Eq. Trolox/g b.h.}$)
Cáscara		
A	7.63 \pm 2.7 ^a	13.19 \pm 1.3 ^{ab}
B	20.95 \pm 4.8 ^{de}	22.85 \pm 2.1 ^b
C	8.47 \pm 2.45 ^{ab}	7.16 \pm 4.0 ^a
D	6.7 \pm 2.0 ^a	8.18 \pm 3.2 ^a
Semilla		
A	17.44 \pm 2.0 ^{cd}	39.98 \pm 2.5 ^d
B	17.05 \pm 4.0 ^{cd}	27.95 \pm 4.3 ^c
C	13.17 \pm 3.2 ^{bc}	23.45 \pm 3.1 ^c
D	22.48 \pm 4.7 ^e	50.0 \pm 4.9 ^e

*Los datos son promedios \pm desviación estándar (n=4).

^{a-d} Promedios con diferentes superíndices son significativamente diferentes ($p \leq 0.05$)

En cuanto a la actividad antioxidante determinada por el método ABTS (**Tabla 13**) se encontró el mínimo en la cáscara de clase D ($6.7 \pm 2.0 \mu\text{mol ET/g b.h.}$), mientras que el valor máximo se cuantificó en los extractos obtenidos de la semilla de la clase D ($22.48 \pm 4.7 \mu\text{mol ET/g b.h.}$). El análisis estadístico de los datos muestra diferencias significativas entre fracciones ($p \leq 0.05$) cuantificándose la mayor actividad antioxidante en las muestras de semilla de clase D. A pesar de los valores altos, y las diferencias marcadas entre las muestras de cáscara clase B y la de semilla clase D, estas no fueron suficientes para diferenciar entre clases ($p \geq 0.05$).

6.6 Actividad antioxidante por el método DPPH

La mayor capacidad para inhibir el radical DPPH• se midió en extractos de la clase D de semilla ($50.0 \pm 4.9 \mu\text{mol ET/g b.h.}$), por otra parte el valor mínimo se encontró en la clase C de cáscara ($7.16 \pm 4.0 \mu\text{mol ET/g b.h.}$). La magnitud de los valores en los extractos de cáscara de las cuatro clases fue muy semejante entre sí; mientras que en los de semilla no lo fueron. Esta variación entre las clases de la fracción de semilla fue la que adquirió significado estadístico ($p \leq 0.05$). En general, se observa actividad antioxidante significativamente mayor en los extractos de semilla, pero al evaluar por clase sin distinguir la fracción, se observa que las diferencias no tienen significado estadístico.

La **Tabla 13** se puede apreciar que tanto en la determinación de actividad antioxidante por el método DPPH como por el ABTS, es mayor en extractos de semilla que en cáscara.

Lo anterior se podría explicar de la siguiente forma; hay un efecto de concentración, que como ya habían mencionado Tian y Schaich (2013) cuando hay un incremento en la concentración de antioxidantes, las moléculas rodean al radical, facilitando la reacción, si se observa la **Tabla 12** se comprobará que hay un contenido mayor de fenoles en la muestra de clase C. El segundo efecto está relacionado con el tiempo de reacción, aunque hay una caída pronunciada de la absorbancia, al disponer de 30 minutos hay suficiente tiempo para que reaccionen otros compuestos, sin embargo, el tamaño de la molécula y sus sustituyentes pueden disminuir la velocidad de reacción por impedimento estérico. Para los fines de este estudio, no es conveniente tener antioxidantes que requieran mucho tiempo para reaccionar con el radical.

La actividad antioxidante de los residuos de la producción agrícola, en muchos casos, parece ser mayor que la de la pulpa, en la **Tabla 14** se muestran datos que permiten observar las diferencias entre algunos productos de conocida actividad antioxidante y sus residuos. Como se puede apreciar, los residuos de la producción de aguacate Hass de la región Sur de Jalisco presenta una mayor capacidad antioxidante que la pulpa y aceite de los mismos aguacates, también es mayor que los residuos de producción de vino y que la cáscara de manzana, además de que los resultados se acercan a los valores de frutos como la granada y el arándano (blueberry) que son conocidos y apreciados por su capacidad antioxidante.

Tabla 14. Actividad antioxidante de diferentes frutos y residuos de la producción por el método ABTS

Muestra	$\mu\text{mol eq. Trolox/g}$	Referencia
Arándano Austin	29.52±3.42	Sellappan, Akoh y Krewer (2002)
Arándano T460	21.19±2.32	Sellappan et al. (2002)
Guayaba Ruby Supreme	22.3±0.9	Thaipong et al.(2006)
Semilla de Granada	15±1.8	Pande y Akoh(2009)
Pulpa de Granada	26.5±2.1	Pande y Akoh(2009)
Cáscara de Granada	34.3±1.9	Pande y Akoh(2009)
Pasta de Uva Cabernet Sauvignon	485.42±3.7	Rockenbach et al.(2011)
Piel de Uva Isabella	2.41±8.6	Yilmaz et al.(2015)
Pulpa de Uva Isabella	1.71±29.8	Yilmaz et al.(2015)
Semilla de Uva Isabella	5.47±86	Yilmaz et al.(2015)
Pulpa Manzana Golden Delicious	3.80±13.1	Vieira et al.(2011)
Cáscara de Manzana Golden Delicious	12.25±12.29	Vieira et al.(2011)
Pulpa de Aguacate Hass del Sur de Jalisco	4.29±0.98	Ciprián (2017)*
Aceite de Aguacate Hass del Sur de Jalisco	0.39±0.11	Ciprián (2017)*
Cáscara de Aguacate Hass del Sur de Jalisco	10.93±6.7	King (2018)
Semilla de Aguacate Hass del Sur de Jalisco	17.53±3.8	King (2018)

*Aguacates de los cuales provienen los residuos estudiados.

6.7 Cinética de reacción de radicales

La determinación de actividad antioxidante en general situó a la clase B de cáscara como la de mayor actividad (**Tabla 13**).

Por lo anterior, se evaluó la reacción de los extractos metanólicos con el radical ABTS^{•+} y con el DPPH[•] durante los 30 min de lectura, observándose algunas diferencias en velocidades de reacción entre clases y fracciones cuando fueron comparadas con las gráficas obtenidas por Tian y Schaich (2013) para diferentes grupos de fenoles con diferente velocidad de reacción y mecanismos (**Figura 10**).

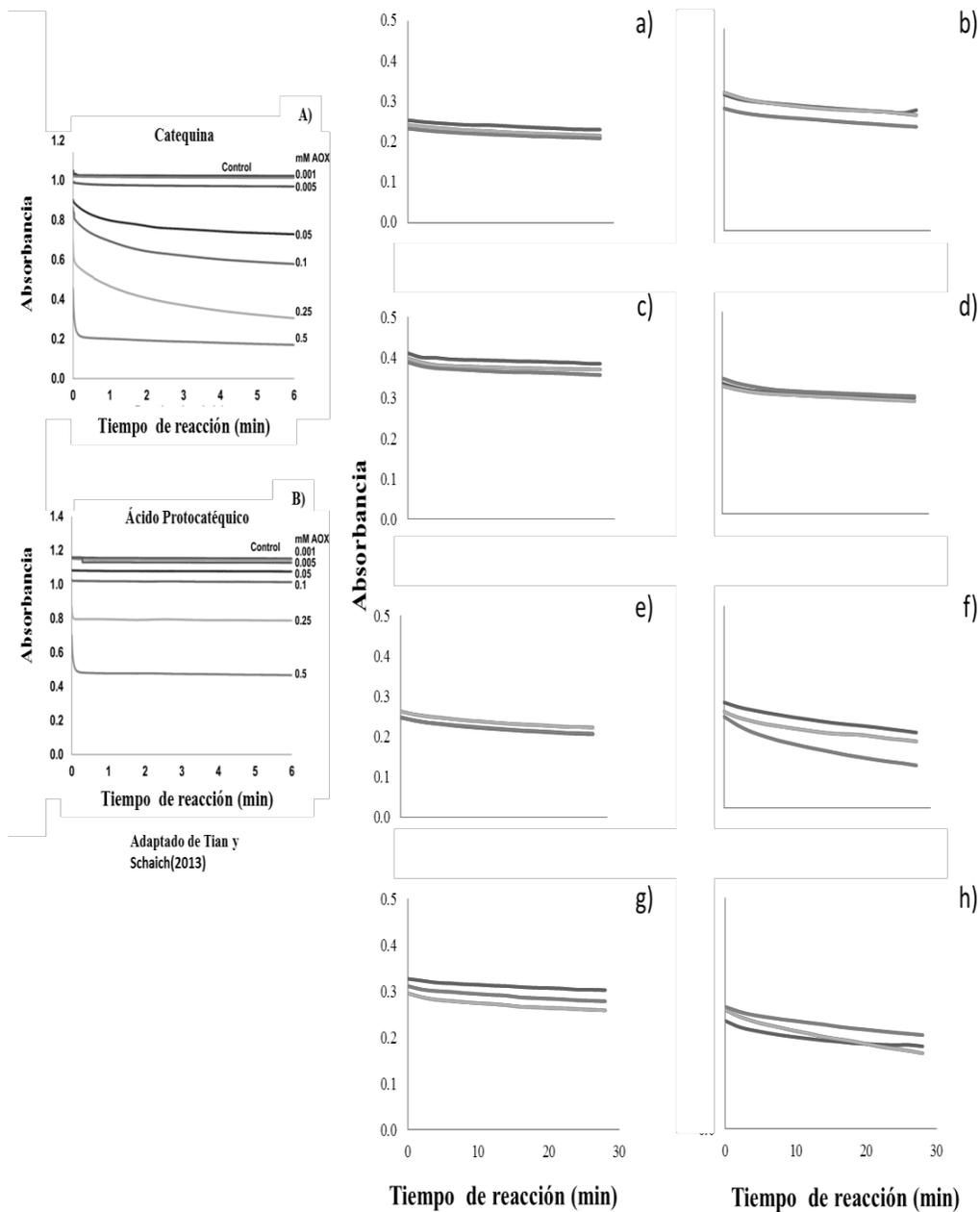


Figura 10. Cinética de reducción del radical ABTS•+ (absorbancia vs. tiempo) con los fenoles A) catequina, B) ácido protocatéquico (Tian & Schaich, 2013), y con los extractos experimentales de a) cáscara clase A, b) semilla clase A, c) cáscara clase B, d) semilla clase B, e) cáscara clase C, f) semilla clase C, g) cáscara clase D y h) semilla clase D provenientes de aguacate Hass

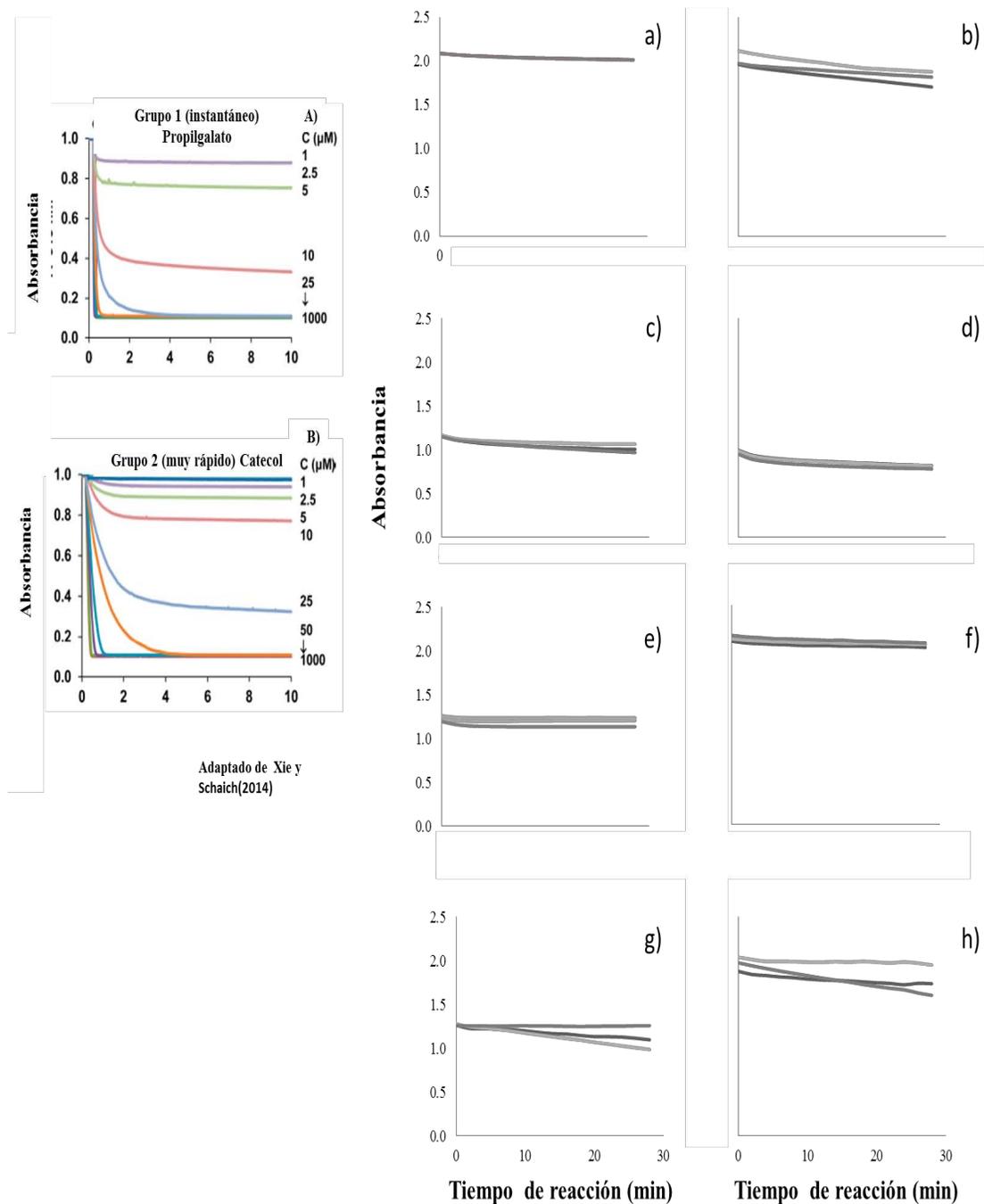


Figura 11. Cinética de reducción del radical DPPH• (absorbancia vs. tiempo) con los fenoles A) propilgalato B) catecol (Xie & Schaich, 2014), y con los extractos experimentales de a) cáscara clase A, b) semilla clase A, c) cáscara clase B, d) semilla clase B, e) cáscara clase C, f) semilla clase C, g) cáscara clase D y h) semilla clase D provenientes de aguacate Hass.

Los autores refieren dos patrones cinéticos para el radical $ABTS^{*+}$ el que aplica al grupo de catequina (**Figura 10, A**), galocatequina, rutina, ácido ferúlico en las cuales se observa una caída inicial de la absorbancia y esta se mantiene casi sin cambios hasta el final de la reacción. En el otro patrón cinético se encuentran el grupo de fenoles conformado por el ácido protocatéquico (**Figura 10, B**), 3-metilcatecol y catecol, en donde hay una caída pronunciada en la absorbancia y una ligera disminución con el tiempo.

En la reacción con el radical $ABTS^{*+}$ se observó que, en general, las reacciones obtenidas en el laboratorio son similares a las del primer patrón que reportaron los autores, donde hay una caída pronunciada en la absorbancia, y posteriormente esta parece permanecer invariable. Sin embargo, algunos casos como el de la semilla clase C (**Figura 10, f**) y D (**Figura 10, h**) fueron la excepción, pues se presentó una disminución posterior que coincide con el segundo patrón del grupo de fenoles del ácido protocatéquico.

En el caso del radical $DPPH\cdot$ se hizo la misma comparación de las cinéticas de los extractos experimentales, pero en este caso con las cinéticas obtenidas por Xie y Schaich (2014) empleando propil galato (**Figura 11, A**) y catecol (**Figura 11, B**), correspondiendo la primera al grupo 1 y la segunda al grupo 2.

En este caso la mayor parte de las muestras de cáscara siguen una cinética típica del ácido ascórbico, pirogalol, y propilgalato (Grupo 1), en donde hay un descenso brusco en la absorbancia luego de la cual casi no se observan cambios (Xie & Schaich, 2014). En semilla se puede apreciar un descenso no muy pronunciado en absorbancia luego de la caída inicial (**Figura 11, b, d, f y h**), que corresponde al grupo del 3-metilcatecol, quercetina, epicatequina, ácido caféico y α -tocoferol (Grupo 2) de acuerdo con lo obtenido por los autores.

Lora (2014) menciona que entre los compuestos fenólicos presentes en la semilla se encuentran las procianidinas, flavonoides, ácido hidroxicinámico, proantocianidina, ácido protocatéquico, quercetina, catequina, mientras que de la cáscara también se han aislado fenoles como catequina, flavonoles, ácido hidroxicinámico, proantocianidina (Kosinka et al., 2012). Adicionalmente, Calderón-Oliver (2016) reportó la presencia de ácido clorogénico en ambas fracciones, con una mayor actividad antioxidante en extractos de cáscara. Enseguida para determinar el orden de reacción de los extractos metanólicos de cada clase y fracción se aplicó el método integral gráfico, de acuerdo con este método se

graficaron las formas integradas de las ecuaciones de las leyes de rapidez para orden cero, uno y dos (Vargas, & Obaya, 2005).

Tabla 15. Determinación de orden de reacción para la reacción de ABTS⁺⁺ y DPPH[•] por el método integral gráfico

Orden de reacción por el método integral gráfico						
Cáscara A						
		ABTS			DPPH	
Orden de reacción	Cero	Uno	Dos	Cero	Uno	Dos
Ordenada al origen	0.1488	-0.1612	-0.0032	0.2637	-0.3061	-0.0111
Pendiente	0.0003	-0.0003	-0.0003	0.001	-0.0014	-0.0012
Coefficiente de correlación	0.8364	0.8377	0.8505	0.8268	0.8304	0.8441
Cáscara B						
Orden de reacción	Cero	Uno	Dos	Cero	Uno	Dos
Ordenada al origen	0.257	-0.2949	8x10-5	0.7604	-1.4085	-0.0359
Pendiente	0.0008	-0.0021	-0.0018	0.005	-0.0287	-0.0063
Coefficiente de correlación	0.951	0.953	0.966	0.8978	0.9565	0.9241
Cáscara C						
Orden de reacción	Cero	Uno	Dos	Cero	Uno	Dos
Ordenada al origen	0.2144	-0.2411	-0.0036	0.2324	-0.2644	-0.0046
Pendiente	0.0015	-0.0019	-0.0018	-0.0012	0.0015	0.0011
Coefficiente de correlación	0.9822	0.9831	0.985	0.9544	0.9559	0.9632
Cáscara D						
Orden de reacción	Cero	Uno	Dos	Cero	Uno	Dos
Ordenada al origen	0.1409	-0.1514	0.0033	0.0456	-0.0467	-0.0078
Pendiente	0.0022	-0.0026	-0.0031	0.0004	-0.0004	-0.0006
Coefficiente de correlación	0.9961	0.9956	0.9862	0.6571	0.6586	0.6975
Semilla A						
Orden de reacción	Cero	Uno	Dos	Cero	Uno	Dos
Ordenada al origen	0.1794	-0.1976	-0.0062	0.6629	-0.9025	0.002
Pendiente	0.0018	-0.0023	-0.0025	0.0104	-0.0638	-0.0156
Coefficiente de correlación	0.966	0.9694	0.9859	0.9958	0.9438	0.9973
Semilla B						
Orden de reacción	Cero	Uno	Dos	Cero	Uno	Dos
Ordenada al origen	0.1691	-0.1851	-0.0042	0.484	-0.6598	-0.0373
Pendiente	0.001	-0.0012	-0.0012	0.0041	-0.0089	-0.0057
Coefficiente de correlación	0.9567	0.9586	0.9716	0.8993	0.9247	0.9381
Semilla C						
Orden de reacción	Cero	Uno	Dos	Cero	Uno	Dos
Ordenada al origen	0.0884	-0.0925	-0.0017	0.7363	-1.0353	-0.0016
Pendiente	0.001	-0.0012	-0.0014	0.0095	-0.0889	-0.0134
Coefficiente de correlación	0.9877	0.9887	0.9967	0.9956	0.888	0.9960
Semilla D						
Orden de reacción	Cero	Uno	Dos	Cero	Uno	Dos
Ordenada al origen	0.1573	-0.1709	-0.0046	0.6474	-0.7141	0.0259
Pendiente	0.0015	-0.0018	-0.002	0.0152	-0.1125	-0.0261
Coefficiente de correlación	0.9815	0.9834	0.9929	0.9973	0.8993	0.9923

Los valores de las lecturas de absorbancia obtenidos durante los 30 minutos de reacción fueron utilizados con cada ecuación de las leyes de rapidez en su forma integrada, en cada una de las gráficas obtenidas se llevó a cabo una regresión lineal. Aquella que mostró un mejor ajuste corresponde al orden de reacción para la muestra ensayada. Este procedimiento se repitió con ambos radicales y cada muestra. De acuerdo a los coeficientes de correlación calculados (*Tabla 15*), se encontró que las reacciones con el radical ABTS^{•+} y DPPH[•] corresponden a cinéticas de segundo orden en 14 de los 16 casos analizados.

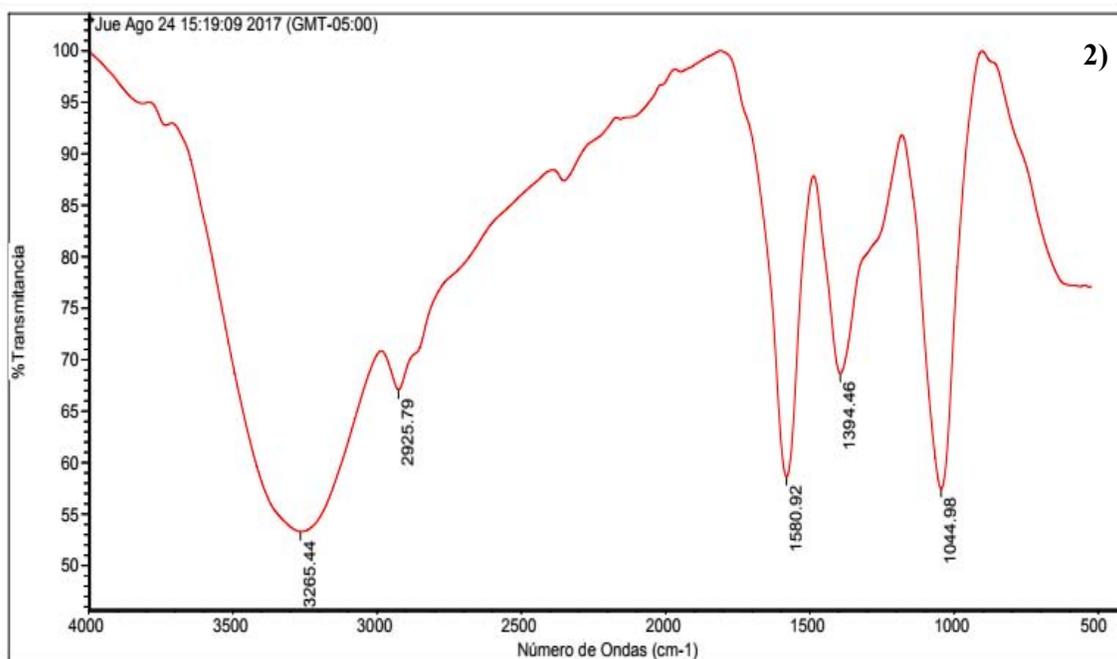
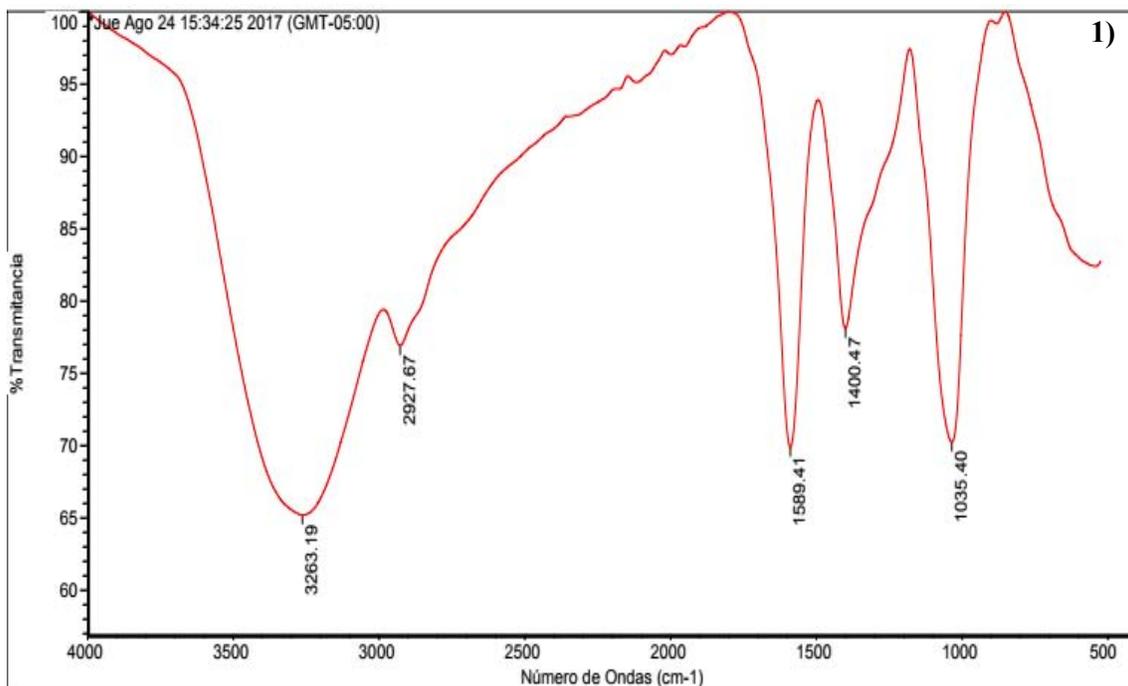
El cálculo del orden de reacción de los extractos estudiados habría sido más preciso si se hubieran medido los cambios en la absorbancia durante los primeros 30 s de reacción que corresponden al tiempo de agitación ya que en algunos estudios se menciona que las reacciones entre radicales como el ABTS^{•+} y fenoles como la catequina, quercetina, ácido caféico y luteolina terminan de 0.1 a 3s (Sekher, Chan, O'Brien, & Rice-Evans, 2001). Sin embargo, en esta ocasión, no se contó con un equipo que pudiese determinar la absorbancia dentro de ese tiempo tan corto. Por otra parte, algunos autores como Apak et al. (2013) mencionan que para que un antioxidante sea efectivo y pueda usarse en aplicaciones biológicas, la reacción debe completarse a los cuatro minutos. En general la reacción se completó dentro de los primeros 4 minutos en las muestras estudiadas, por lo que podría considerarse que cumple con el requisito mencionado.

6.8 Espectros de infrarrojo de extractos metanólicos de cáscara y semilla de aguacate Hass

En las **Figuras 12 y 13** se muestran los espectros de infrarrojo de los extractos metanólicos de cáscara y semilla de aguacate, en la **Tabla 16** se desglosan los resultados a manera de observaciones ya que no fue posible contar con un número adecuado de determinaciones para realizar inferencias desde un punto de vista estadístico.

Tabla 16 Bandas de infrarrojo en las muestras de cáscara y semilla de aguacate Hass.

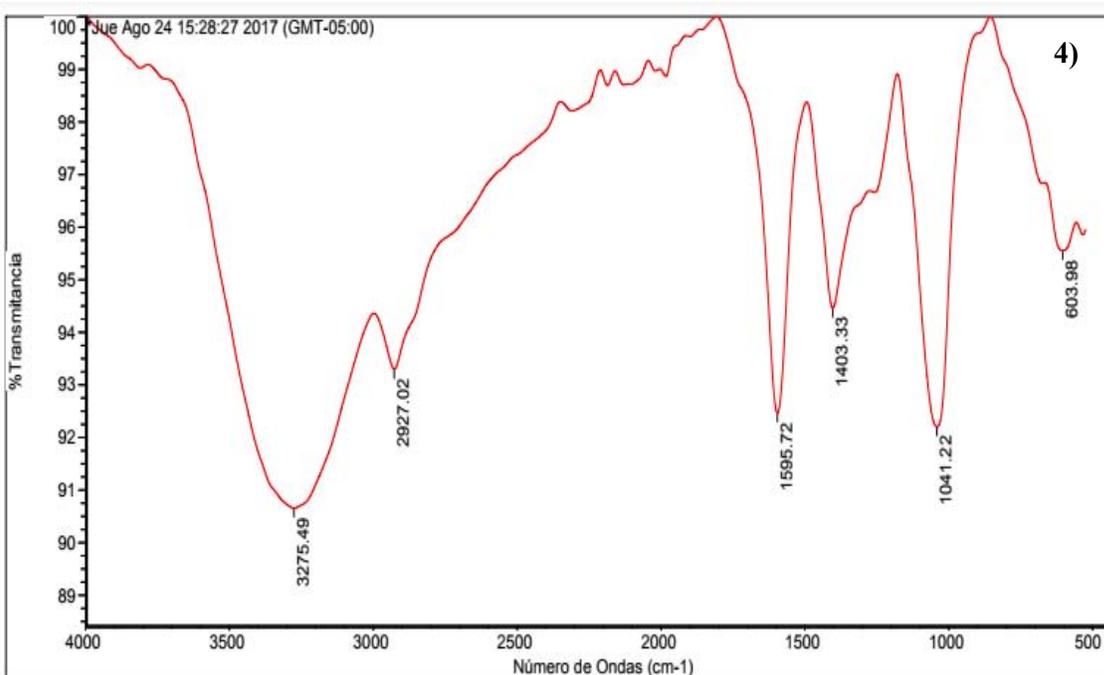
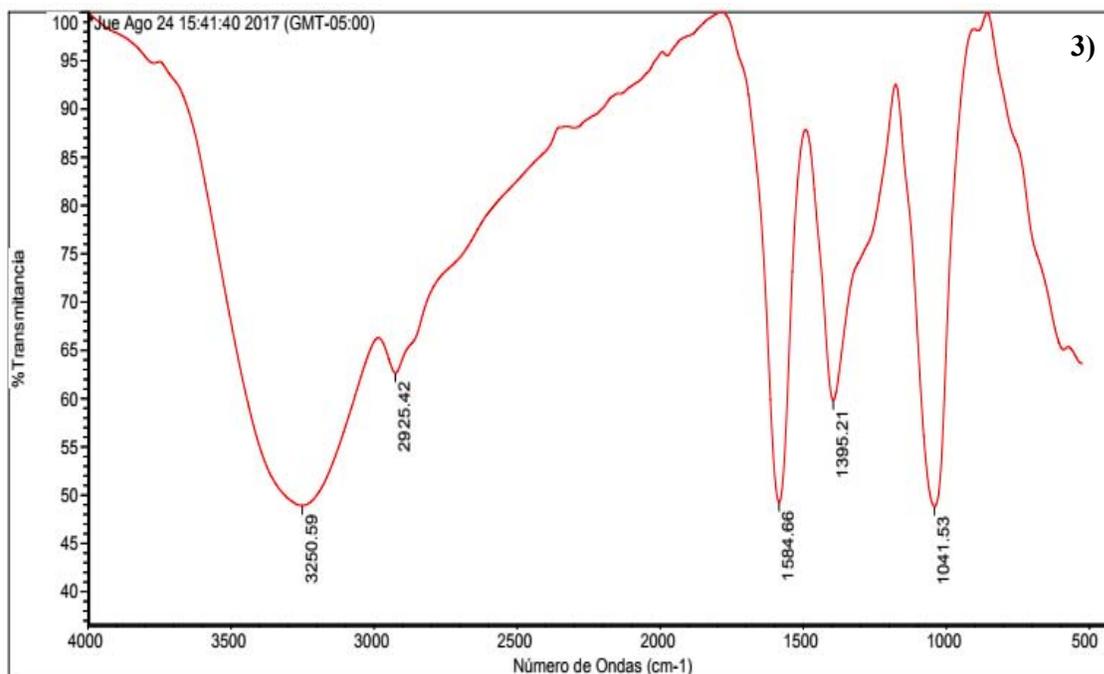
Bandas de IR							
CA	CB	CC	CD	SA	SB	SC	SD
cm ⁻¹							
3263.19	3265.44	3250.59	3275.49	3204.53	3201.59	3216.50	3216.69
2927.67	2925.79	2925.42	2927.02	2930.39	2931.85	2924.04	2924.75
1589.41	1580.92	1584.66	1595.72	1592.33	1583.88	1722.47	1723.21
1400.47	1394.46	1395.21	1403.33	1398.44	1399.67	1603.72	1604.07
1035.40	1044.98	1041.53	1041.22	1018.84	1303.73	1396.69	1401.08
			603.98	878.01	1217.20	1245.33	1302.24
				608.17	1081.85	1022.42	1242.86
					875.91	879.67	1019.82
					736.31	619.24	878.03
					613.91	543.23	617.67
					532.75		531.97



Figuras 12. Espectros IR de extractos de cáscara de aguacate

1) Cáscara A IR (CH₃OH) cm⁻¹: 3263(OH) 2927(CH/CH₂), 1589(C=O/C=C carbonilo), 1400(O-H fenol), 1035(C-O-C)

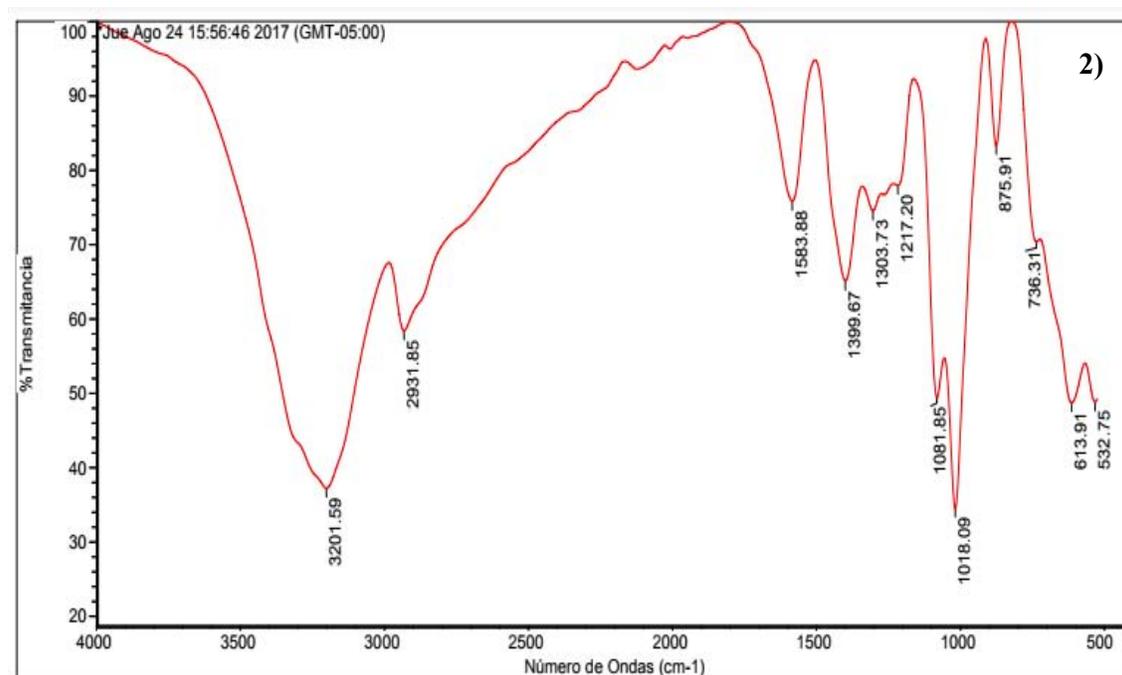
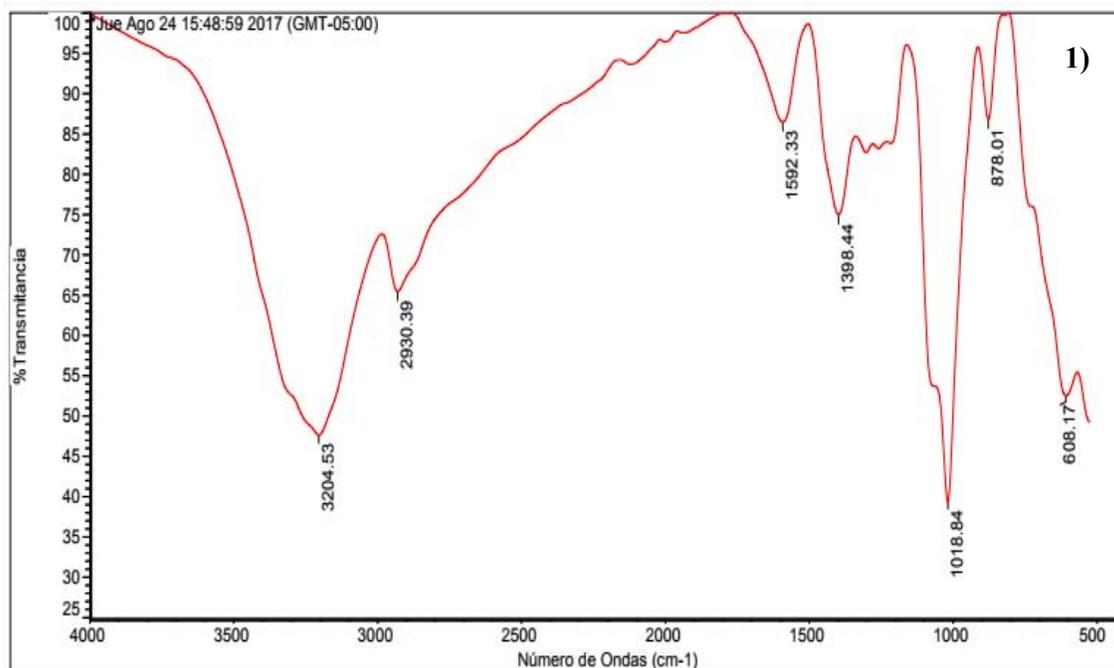
2) Cáscara B IR (CH₃OH) cm⁻¹: 3265(OH), 2925(CH/CH₂), 1580(C=O/C=C carbonilo), 1394(O-H fenol), 1044(C-O-C)



Figuras 12. Espectros IR (ATR) de extractos de cáscara de aguacate

3) Cáscara C IR (CH₃OH) cm⁻¹: 3250(OH), 2925(CH/CH₂), 1584(C=O/C=C carbonilo), 1395(O-H fenol), 1041(C-O-C)

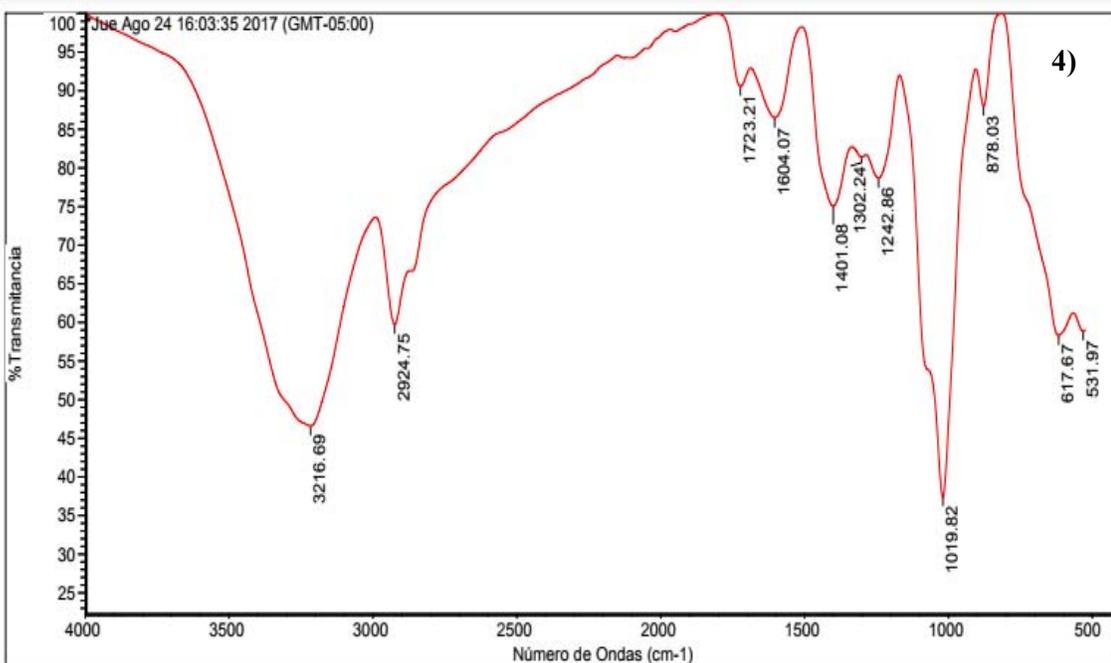
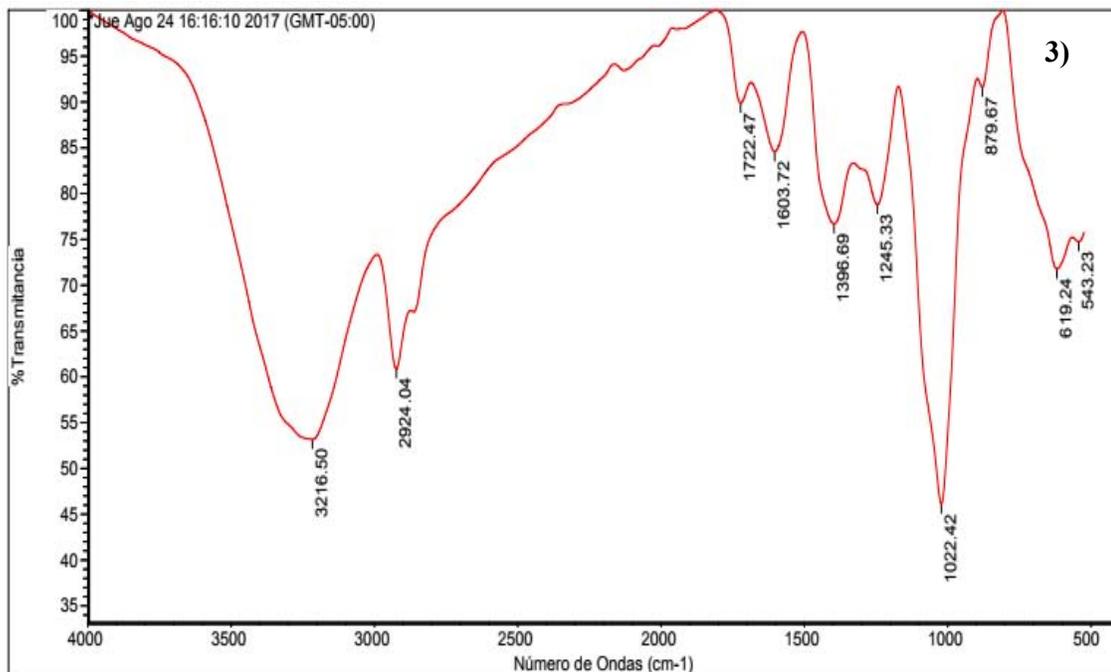
4) Cáscara D IR (CH₃OH) cm⁻¹: 3275(OH), 2927(CH/CH₂), 1595(C=O/C=C carbonilo), 1403(O-H fenol), 1041(C-O-C)



Figuras 13. Espectros IR (ATR) de extractos de semilla de aguacate

1) Semilla A IR (CH₃OH) cm⁻¹: 3204(OH), 2930(CH/CH₂), 1592(C=O/C=C carbonilo), 1398(O-H fenol), 1018(C-O-C), 878(C=C aromático polinuclear)

2) Semilla B IR (CH₃OH) cm⁻¹: 3201(OH), 2931(CH/CH₂), 1583(C=O/C=C carbonilo), 1399(O-H fenol), 1018(C-O-C), 875(C=C aromático polinuclear)



Figuras 13. Espectros IR (ATR) de extractos de semilla de aguacate

3) Semilla C IR (CH_3OH) cm^{-1} : 3216(OH) 2924(CH/CH_2), 1589($\text{C}=\text{O}/\text{C}=\text{C}$ carbonilo), 1400(O-H fenol), 1022($\text{C}-\text{O}-\text{C}$), 879($\text{C}=\text{C}$ aromático polinuclear)

4) Semilla D IR (CH_3OH) cm^{-1} : 3263(OH) 2924(CH/CH_2), 1604($\text{C}=\text{O}/\text{C}=\text{C}$ carbonilo), 1401(O-H fenol), 1723, 1019($\text{C}-\text{O}-\text{C}$), 878(aromático polinuclear)

Todos los espectros muestran una banda alrededor de 3200 cm^{-1} (*Tabla 16*) que está relacionada con el modo vibracional por estiramiento para grupos hidroxilo (OH) de alcoholes y fenoles, además de que también se encuentra en todas las muestras bandas intensas en la región de $1200\text{-}1000\text{ cm}^{-1}$ relacionadas con las vibraciones por estiramiento de enlaces C-O para alcoholes (Silverstein & Webster, 1998), cabe mencionar que el metanol de los extractos se evaporó cuidadosamente.

Alrededor de $3000\text{-}2840$ se encuentra la banda de -CH/CH_2 por estiramiento. En 1590 cm^{-1} se encuentran bandas débiles que denotan sistemas aromáticos conjugados con un carbonilo (Silverstein & Webster, 1998).

En 1398 cm^{-1} la banda está relacionada con un metileno, mientras que las muestras que tienen bandas en 878 cm^{-1} se pueden deber a un sistema aromático polinuclear. Las muestras de semilla presentan una banda en $1250\text{-}950\text{ cm}^{-1}$ que podría tratarse de un CH de un compuesto aromático. También se encontraron algunas bandas no identificadas; en cáscara clase D en 603 cm^{-1} , en la semilla clase A en 608 , para la semilla clase B en 617 cm^{-1} y 531 cm^{-1} , en la clase C de semilla no se identificaron las bandas en 619 cm^{-1} y 543 cm^{-1} , para la clase D de semilla las bandas no identificadas se encuentran en 617 cm^{-1} y 531 cm^{-1} (Silverstein & Webster, 1998).

La aparición de las bandas en 3200 y $1590\text{-}1580\text{ cm}^{-1}$ permite determinar que los flavonoides son el componente principal de las muestras. Aunque de acuerdo con Kumar y Cumbal (2016) se esperaría una banda intensa en $1671\text{-}1611\text{ cm}^{-1}$ de C=C/ C=O de carbonilo, esta se encuentra desplazada muy probablemente por el efecto de los grupos hidroxilo en anillos aromáticos (puentes de hidrógeno internos), tal como se ha visto en estudios de espectrometría de infrarrojo con diferentes flavonoides (Heneczowski, Kopacz, Nowak & Kuzniar, 2001).

Al comparar los espectros obtenidos con los resultados de Kumar y Cumbal (2016) (*Figura 14*) se observó que los espectros de los extractos metanólicos de aguacate Hass del Sur de Jalisco son muy parecidos al de pulpa de aguacate, en la *Tabla 17* se pueden apreciar las bandas de la cáscara y pulpa de aguacate de Ecuador y los obtenidos en este estudio notando que tanto en cáscara clase D y pulpa (Kumar & Cumbal) se encuentra ausente la banda en $1740\text{-}1720\text{ cm}^{-1}$ del carbonilo, posiblemente se encuentre enmascarado o desplazado.

Tabla 17 Bandas de IR de aguacate ecuatoriano y aguacate del Sur de Jalisco

Cáscara de aguacate (Kumar& Cumbal, 2016) (FTIR) cm^{-1}	Pulpa de aguacate (Kumar& Cumbal, 2016) (FTIR) cm^{-1}	Cáscara de aguacate clase D (ATR) cm^{-1}	Semilla de aguacate clase C (ATR) cm^{-1}
3276.3	3284	3275.49	3216.50
2918	2924	2927.02	2924.04
2850	2851		
1737.7			1722.47
1671.9	1635.2	1595.72	1603.72
	1415	1403.33	
	1371		1396.69
	1245		1245.33
1159			
1097	1032.3	1041.22	1022.42
			879.67
719.67		603.98	619.24
			543.23

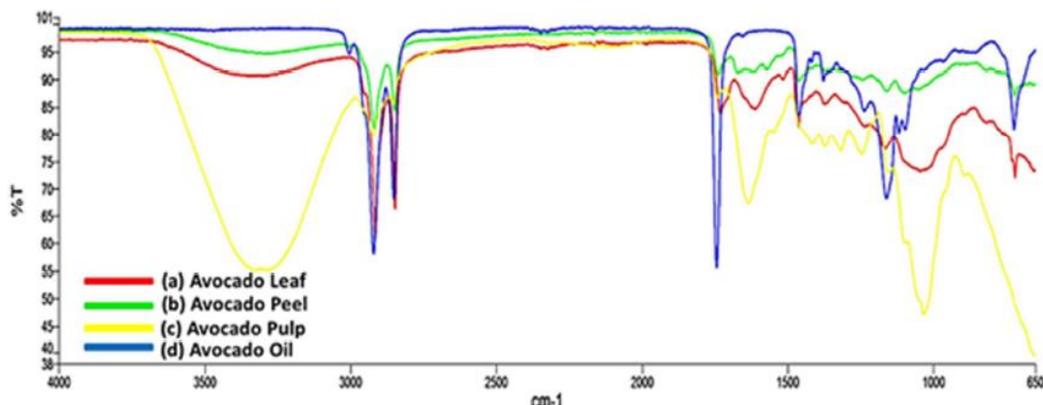


Figura 14 Espectros de infrarrojo de hoja, cáscara, pulpa y aceite de aguacate de Ecuador.

Nota: Obtenido de Kumar y Cumbal (2016). [Figure. FTIR Spectrum of Avocado (a) leaf, (b) peel, (c) pulp and (d) oil]

Debido a que las estructuras de los componentes conocidos en las muestras por lo general se trata de sistemas aromáticos donde hay conjugación y numerosos grupos hidroxilo, los espectros obtenidos son congruentes con la información conocida, aunque no se encuentran todas las bandas que, en un compuesto puro, debido a que se encuentran enmascaradas o

en cantidades que no son detectables. Por lo tanto, para la adecuada identificación de los componentes de los extractos, se deberán separar y determinar el espectro infrarrojo para cada uno de estos, es recomendable obtener estándares de cada extracto.

6.9 Perfil de ácidos grasos en semilla y cáscara de aguacate

6.9.1 Ácidos grasos presentes en cáscara y semilla

Se encontraron seis ácidos grasos comunes a las dos fracciones; palmítico, palmitoleico, esteárico, oleico, linoleico y el cis-11-eicosenoico. Los valores de la proporción en caso del ácido palmítico (**Tabla 18**) presentaron el mínimo en la clase B de semilla ($16.15 \pm 1.2\%$), mientras que el mayor porcentaje se encontró en la muestra D de cáscara ($23.67 \pm 0.3\%$). Se apreciaron diferencias significativas ($p \leq 0.05$) en cuanto a clase y fracción estudiada. El análisis estadístico por fracción muestra que el contenido de ácido palmítico es superior en la cáscara ($p \leq 0.05$), mientras que por clase, la D fue significativamente diferente al resto. El análisis estadístico de las diferentes combinaciones de fracciones y clases muestra que hay diferencias significativas ($p \leq 0.05$), sin embargo estas diferencias no fueron lo suficientemente claras para formar grupos de medias homogéneos.

En el caso del ácido palmitoleico, se encontró que la clase A de cáscara se encuentra en mayor proporción ($9.63 \pm 0.06\%$), mientras que el menor contenido se encuentra en la clase A de la fracción de semilla ($3.15 \pm 0.1\%$). El análisis estadístico de las combinaciones de fracción y clase mostró que existen diferencias significativas ($p \leq 0.05$), formando grupos claramente diferenciados (**Tabla 18**), el primero con los promedios menores agrupa las muestras de semilla de las clases A, B y C; le sigue el conformado por el contenido en muestras de semilla de la clase D y de la clase B en cáscara; se agruparon en un grupo homogéneo la cáscara en sus clases D y C, finalmente con el mayor contenido la cáscara de la clase A. El contenido de palmitoleato en ambas fracciones (cáscara y la semilla) es significativamente diferente ($p \leq 0.05$) siendo superior en la cáscara; sin embargo, el análisis por clase no marcó diferencias.

Para el ácido esteárico el menor contenido se encontró en la clase D de cáscara ($0.91 \pm 0.1\%$), mientras que el mayor ($3.20 \pm 1.0\%$) se encuentran en la fracción de semilla de la clase B. En el análisis estadístico se encontraron diferencias claras entre las combinaciones de clase y fracción ($p \leq 0.05$), que dieron lugar a dos grupos homogéneos conformados de acuerdo con la fracción. Encontrándose que el contenido de este ácido graso es

significativamente mayor en semilla ($p \leq 0.05$), pero al comparar las cuatro clases no hubo diferencias.

Los valores determinados para el ácido oleico tienen su mínimo en la clase A de semilla ($24.26 \pm 2.7\%$), mientras que el mayor contenido se encontró en la clase D de la cáscara ($56.61 \pm 2.7\%$) (**Tabla 18**). El análisis de los tratamientos que resultaron de la combinación de fracción y clase mostró claras diferencias ($p \leq 0.05$), se pueden formar cuatro grupos homogéneos, dos de ellos en la fracción de semilla con los menores porcentajes de ácido oleico (Clases A con B y Clase C con D) y el resto en la fracción de cáscara (En un grupo sólo la clase D y Clases B, A y C). De lo anterior se desprende que las fracciones fueron diferentes, no así las clases estudiadas.

El ácido linoleico presentó el menor contenido, en la muestra D de cáscara ($10.97 \pm 0.4\%$) mientras que el mayor contenido corresponde a la muestra A de semilla ($24.34 \pm 3.3\%$), se observan que los porcentajes mayores se encuentran en semilla. El análisis estadístico de las fracciones combinadas con las clases demuestra que hay diferencias significativas ($p \leq 0.05$), que se aprecian claramente con la conformación de dos grupos homogéneos separados por la fracción. El análisis por fracción mostró que la tendencia es hacia un contenido significativamente mayor de ácido linoleico en semilla, mientras que por clase no hubo significado estadístico en las diferencias ($p \geq 0.05$).

Para el ácido cis-11-eicosenoico la muestra con menor porcentaje corresponde a la de semilla clase D ($0.78 \pm 0.1\%$), la mayor proporción de este ácido graso corresponde a la muestra C ($4.83 \pm 0.5\%$) de la fracción de semilla. El análisis estadístico de los datos indicó que hay diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre las combinaciones estudiadas. Se encontraron tres grupos homogéneos claramente diferenciados: los dos primeros con los promedios menores en la fracción de cáscara, conformando un solo grupo la cáscara de la clase B, el tercer grupo se formó con todas las clases de la fracción de semilla. De los análisis estadísticos por fracción se desprende que ambas son diferentes, aunque en el análisis por clase indicó que ninguna de las cuatro lo fue.

En la cáscara se detectaron en diversas muestras, a nivel de trazas los ácidos: decanoico, γ -linoleico, y linoleico. Además, se encontraron picos no identificados que no correspondieron a los ésteres metílicos incluidos en la mezcla de 37 ácidos grasos.

Tabla 18 Perfil de ácidos grasos de cáscara y semilla de aguacate *Persea americana* Mill. var. Hass del Sur de Jalisco

Ácidos Grasos	Fracción							
	Cáscara				Semilla			
	Clase							
	A	B	C	D	A	B	C	D
Saturados								
Laurico C12					1.24±0.1 ^a			
Mirístico C14					2.62±1.7 ^a	1.79±0.1 ^a	2.27±0.4 ^a	2.25±0.7 ^a
Pentadecanoico C15					0.61±0.05 ^a			
Palmítico C16	20.68±2.0 ^{cde}	20.32±1.4 ^{bcd}	21.18±1.9 ^{def}	23.67±0.3 ^f	17.87±3.1 ^{abc}	16.15±1.2 ^a	17.56±2.4 ^{ab}	23.24±1.3 ^{ef}
Esteárico C18	0.96±0.07 ^a	1.45±0.1 ^a	1.02±0.5 ^a	0.91±0.1 ^a	2.55±1.0 ^b	3.20±1.0 ^b	2.90±0.3 ^b	2.68±0.7 ^b
Heicosenoato C21					5.99±0.4 ^a	6.27±0.8 ^a	8.00±1.8 ^a	
TOTAL	10.82	10.88	11.1	12.29	5.14	6.85	7.58	9.39
Monoinsaturados								
Palmitoleico C16:1	9.63±0.06 ^d	7.05±0.3 ^b	8.48±0.4 ^c	7.92±0.2 ^c	3.15±0.1 ^a	3.27±0.06 ^a	3.55±0.6 ^a	6.54±0.7 ^d
Oleico C18:1 Ω 9	51.75±1.6 ^c	49.63±3.9 ^c	52.24±2.8 ^c	56.61±2.7 ^d	24.26±2.7 ^a	24.50±1.0 ^a	35.75±3.0 ^b	38.33±3.9 ^b
Erucico C22:1 Ω 9					11.07±1.9 ^a	15.14±2.2 ^a	10.08±5.3 ^a	2.95±0.8 ^a
TOTAL	30.69	28.34	30.36	32.26	12.82	14.3	16.46	15.94
Poliinsaturados								
Linoleico C18:2 Ω 6	13.97±0.9 ^b	13.52±0.7 ^{ab}	15.84±0.9 ^b	10.97±0.4 ^a	24.34±3.3 ^d	22.17±2.1 ^{cd}	20.69±2.7 ^c	23.40±2.0 ^{cd}
Linolénico C18:3 Ω 3					4.04±2.5 ^a	2.89±0.9 ^a		
cis-11-Eicosenoico C20:2 Ω 9	1.13±0.03 ^a	2.80±0.5 ^b	1.32±0.1 ^a	0.78±0.1 ^a	4.12±0.9 ^{cd}	3.90±0.4 ^c	4.83±0.5 ^d	3.57±0.2 ^c
cis-13,16-Docosadienoico C22:2 Ω 6					2.00±0.7 ^a	2.74±0.3 ^a		
TOTAL	7.55	8.16	8.58	5.87	8.62	7.92	12.76	13.48

Los datos son promedios ± desviación estándar (n=4)

^{a-f} Promedios con diferentes superíndices son significativamente diferentes (p≤0.05)

6.9.2 Ácidos grasos exclusivos de la semilla

Se encontraron en la semilla siete ácidos grasos que no se encontraron en la cáscara: Láurico, mirístico, pentadecanoico, heneicosanoato, erucico, linolénico y cis-13,16-docosadienóico (**Tabla 18**).

Para el ácido mirístico el menor contenido se encontró en la clase B ($1.79 \pm 0.1\%$), mientras que la clase A tiene el mayor ($2.62 \pm 1.7\%$). En el caso del ácido heneicosanoico, éste se encontró presente sólo en tres de las cuatro clases estudiadas, con el mayor porcentaje en la muestra C ($8.00 \pm 1.8\%$), y el menor en la muestra A ($5.99 \pm 0.4\%$). El ácido linolénico, presentó el mayor y menor contenido en la clase A ($4.04 \pm 2.5\%$) y D ($2.02 \pm 2.5\%$), respectivamente. El ácido cis-13,16-docosadienoico sólo estaba presente en las muestras A y B de semilla, teniendo el mayor contenido en esta última ($2.74 \pm 0.3\%$). El ácido láurico ($1.24 \pm 0.1\%$) y pentadecanoico (0.61 ± 0.05) sólo fueron detectados en la clase A. En el análisis estadístico de los ácidos grasos exclusivos de la semilla que han sido mencionados no se encontraron diferencias estadísticas entre las clases ($p \geq 0.05$), sólo se encontraron diferencias estadísticas tras el análisis del ácido erúcico. En este ácido se cuantificó el mayor contenido en la clase B ($15.14 \pm 2.2\%$), mientras que la clase D tiene el menor contenido ($2.95 \pm 0.8\%$). Siendo diferente la clase D respecto al grupo homogéneo conformado por el resto ($p \leq 0.05$).

Es importante mencionar que se encontraron otros ácidos grasos en la semilla, sin embargo, sólo a nivel de trazas, los ácidos grasos encontrados fueron: cis-5, 8,11,14,17-eicosapentanoico, araquidónico, cis-5,8,11,14-eicosatetraenoico, nervónico, decanoico, heptadecanoico, miristoléico, cis-10-pentadecanóico y tricosanóico.

6.9.3 Diferencias entre los perfiles lipídicos de la semilla y la cáscara.

Del estudio de los ácidos grasos que conforman el perfil lipídico de ambas fracciones se desprende lo siguiente:

- Los ácidos grasos mayoritarios en ambas fracciones en orden decreciente en cuanto a su proporción son: ácido oleico, ácido palmítico y ácido linoleico, el orden del palmítico y linoleico se invierte en los extractos de semilla. En la **Tabla 19** se encuentran los diferentes ácidos grasos en orden decreciente de acuerdo a su proporción:

Tabla 19. Contenido de ácidos grasos en orden decreciente de acuerdo a su proporción en la cáscara y semilla de aguacate Hass (*Persea americana* Mill.) del Sur de Jalisco.

Cáscara	Semilla
Oleico	Oleico
Palmítico	Linoleico
Linoleico	Palmítico
Palmitoléico	Erucico

- Durante la determinación del perfil de ácidos grasos se detectaron varios picos que no fue posible identificar empleando la mezcla de ésteres metílicos de 37 ácidos grasos, que pueden observarse en la **Tabla 20** junto con sus respectivos tiempos de retención, en la **Figura 15 a** se aprecian los 37 ácidos grasos, los picos no identificados fueron encontrados en los tiempos de retención de 42.5 min, 42.8min en las muestras de cáscara y al min 67 en las muestras de semilla, en algún caso podría tratarse de un artefacto formado por las condiciones de metilación.

Adicionalmente se observó en la fracción de semilla (**Figura 15 b**) la presencia de ocho ácidos grasos que no aparecieron en el perfil de la cáscara (**Figura 15 c**). En la **Figura 15 b** se encuentran identificados estos picos de acuerdo con el tiempo de retención.

Tabla 19 Tiempos de retención de la mezcla de 37 ácidos grasos utilizados como estándares

Metil Éster de Ácido Graso	Tiempo de retención (min)
Butírico	13.641
Hexanoico	16.506
Octanoico	19.174
Decanoico	21.571
Undecanoico	22.798
Laurico	24.12
Tridecanoico	25.577
Mirístico	27.213
Miristoleico	28.666
Pentadecanoico	29.033
Cis-10-pentadecanoico	30.0668
Palmítico	31.064
Palmitoleico	32.554
Heptadecanoico	33.254
Cis-10-heptadecanoico	34.876
Estearico	35.617
Trans-9-elaídico	36.603
Cis-9-oleico	37.126
Linolelaídico	38.176
Linoléico	39.374
Araquídico	40.643
γ -linoleico	41.043
Cis-11-eicosenoico	42.086
Linolenico	42.243
Heneicosanoico	43.227
Cis-11,14-eicosadienoico	44.658
Behenico	45.949
Cis-8,11,14-eicosatrienoico	46.504
Erucico	47.622
Cis-11,14,17-eicosatrienoico	47.759
Tricosanoico	47.94
Cis-5,8,11,14-eicosatetraenoico	48.835
Cis-15,16-docosadienoico	50.591
Lignocerico	51.321
Cis-5,8,11,14,17-eicosapentanoico	52.005
Nervónico	54.2
Cis-4,7,10,13,16,19-docosahexaenoico	61.072

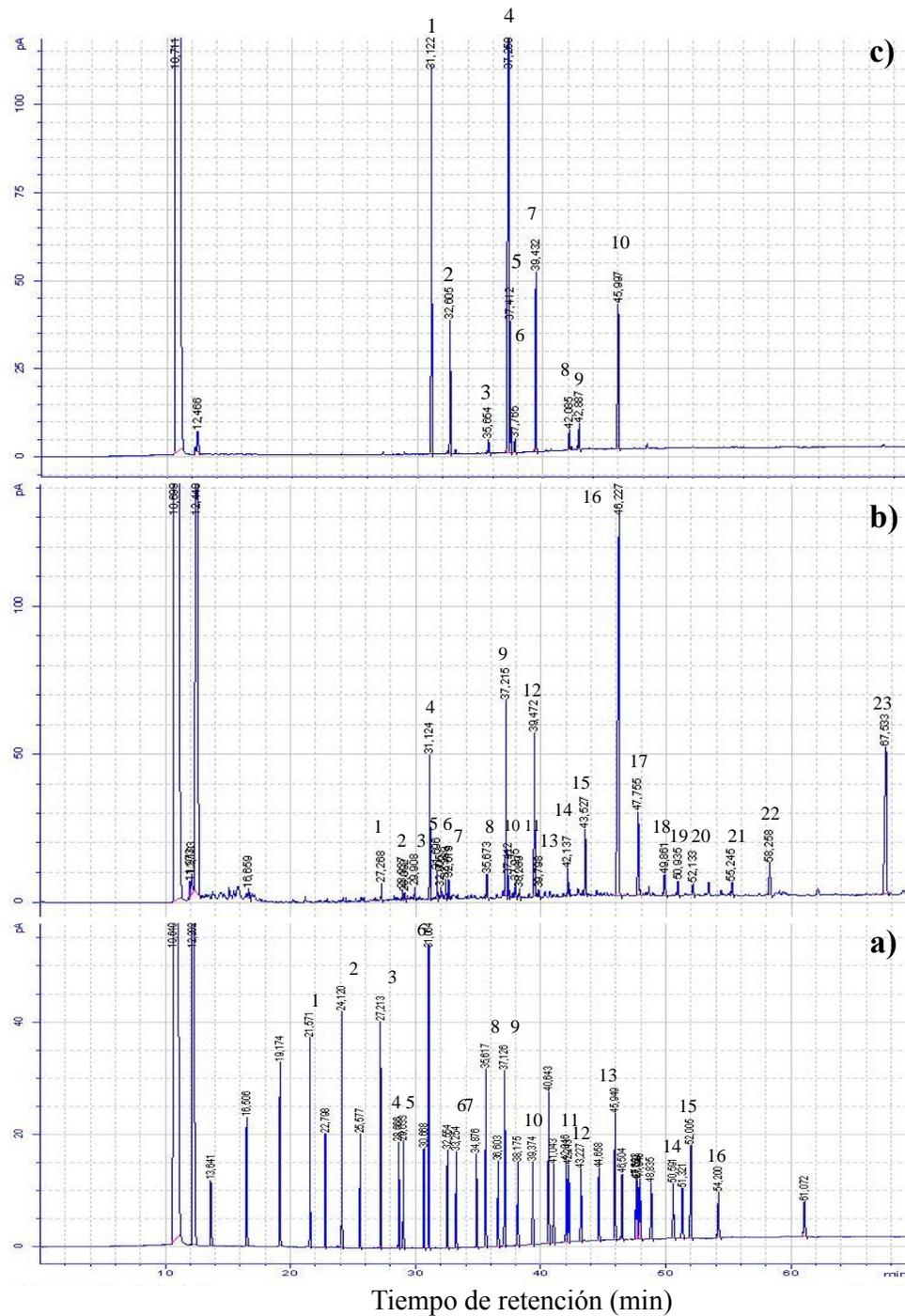


Figura 15 Cromatogramas de muestras de aguacate del Sur de Jalisco.

a) Mezcla FAME 37 : 1 Decanoato, 2 laurato, 3 miristato, 4 miristoleato, 5 pentadecanoato, 6 palmitato, 7 palmitoleato, 8 estearato, 9 oleato, 10 linoleato, 11 cis-11-eicosanoato, 12 heneicosanoato, 13 behenato, 14 cis-15,16-docosadienoico, 15 cis-5,8,11,14,17-eicosapentanoico, 16 nervonato.

b) Muestra de semilla: 1 Miristato, 2 miristoleato, 3 pentadecanoato, 4 palmitato, 5-6 desconocidos, 7 palmitoleato, 8 estearato, 9 oleico, 10-11 desconocidos, 12 linoleato, 13 desconocido, 14 cis-11-eicosanoato, 15 heneicosanoato, 16 estándar interno, 17 erucato, 18 desconocido, 19 cis-15,16-docosadienoico, 20 cis-5,8,11,14,17-eicosapentanoato, 21-23 desconocidos.

c) Muestra de cáscara: 1 Palmitato, 2 palmitoleato, 3 estearato, 4 oleato, 5 isómero del ácido oleico, 6 desconocido, 7 linoleato, 8 cis-11-eicosanoato, 9 desconocido, 10 estándar interno

De acuerdo a los resultados, el perfil de ácidos grasos obtenido para la cáscara es muy similar al reportado para pulpa por Chow (2008), Manzano (2016) y al de Ciprián-Macías (2017) quien extrajo el aceite del cual provienen la cáscara y semilla de aguacate estudiados, en la **Figura 16** se observa que aunque hay similitudes en los perfiles de ácidos grasos, el contenido de ácido palmítico es mayor en cáscara, mientras que el de oleico es mayor en pulpa, el contenido de ácidos palmitoleico y linoleico también presentan similitudes, por otro lado el contenido en semilla difiere en el porcentaje de ácidos grasos presentes, siendo menor el porcentaje de los ácidos grasos encontrados en mayor proporción en pulpa y cáscara, pero se ha observado que en contraste hay una mayor diversidad de ácidos grasos.

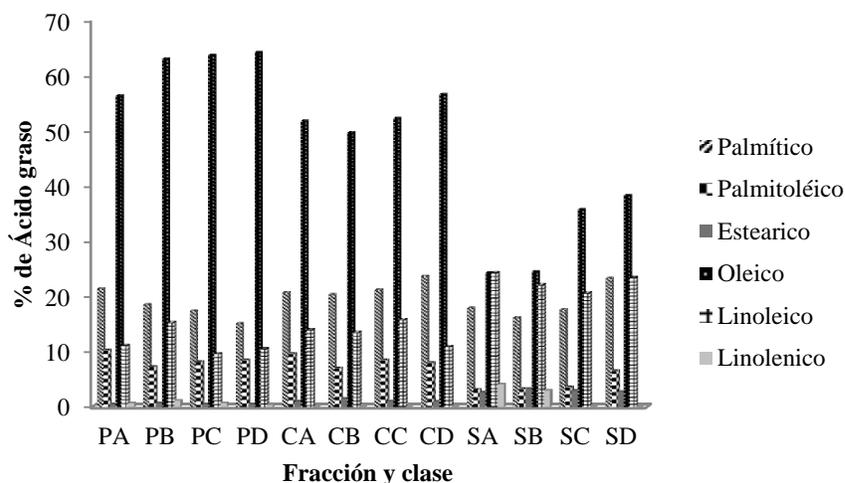


Figura 16 Contenido de ácidos grasos en pulpa (P) (Ciprian 2017), cáscara (C), semilla (S) y de las clases A, B, C y D (n = 4).

Estas diferencias pueden tener origen en la función y estructura de cada órgano de la planta. La similitud entre el contenido en pulpa y en cáscara se debe a que el exocarpio del fruto (cáscara) está compuesto de tejido epidérmico parenquimado (Barrientos, Villanueva & Avita, 1996).

La semilla de aguacate contiene al embrión y sustancias de reserva (De Francesco & González, 2000) necesarias para la germinación, de acuerdo con Romero (2012) en el fruto de aguacate el 85% de los lípidos son de reserva y se sintetizan durante el crecimiento y madurez. Ya que la semilla contiene al embrión, la diversidad de ácidos grasos se puede explicar cómo aquellos que son necesarios para la nutrición de éste, o como intermediarios

del metabolismo de la semilla durante la madurez. Mientras que el tejido parenquimado de pulpa y cáscara funciona como reserva, por lo que tiene un contenido más homogéneo de ácidos grasos. El aceite de semilla podría llegar a ser utilizado como alimento biofuncional debido a que contiene numerosos ácidos grasos bioactivos, es decir, que cumplen funciones como fuente de energía, señalización, estructuración y reguladores del metabolismo (Djilas et al. 2009) tales como el ácido linoleico, linolénico, esteárico y trazas de araquidónico, precursor de eicosanoides,

6.9.4 Ácidos grasos según el grado de insaturación

De acuerdo con los perfiles determinados para las diferentes clases y fracciones se encontró que tanto en los aceites de cáscara como en semilla predomina la presencia de ácidos grasos monoinsaturados (**Tabla 20**).

Tabla 20 Contenido de ácidos grasos de acuerdo al grado de insaturación en aceite de cáscara y semilla de aguacate Hass (*Persea americana* Mill.) del Sur de Jalisco.

Clase	Saturados (%)	Monoinsaturados (%)	Poliinsaturados (%)
Cáscara			
A	22.05 ± 2.0 ^a	62.55 ± 1.6 ^{de}	15.38 ± 0.9 ^b
B	22.96 ± 1.4 ^a	59.81 ± 3.6 ^d	17.22 ± 0.6 ^b
C	22.18 ± 2.1 ^{ab}	60.67 ± 2.5 ^{de}	17.14 ± 1.0 ^b
D	24.37 ± 0.5 ^{abc}	63.98 ± 2.7 ^e	11.64 ± 0.6 ^a
Semilla			
A	19.33 ± 3.3 ^{bc}	48.23 ± 7.0 ^a	32.43 ± 2.3 ^e
B	23.56 ± 3.2 ^{abc}	49.19 ± 7.3 ^{ab}	24.24 ± 3.5 ^{de}
C	20.59 ± 3.5 ^c	44.72 ± 6.2 ^{bc}	34.67 ± 4.1 ^c
D	24.19 ± 2.9 ^c	41.07 ± 2.2 ^c	34.73 ± 1.4 ^{cd}

*Los datos son promedios ± desviación estándar (n=4).

^{a-d} Promedios con diferentes superíndice son significativamente diferentes ($p \leq 0.05$).

De entre todas las determinaciones realizadas se encontró que el contenido de ácidos grasos saturados fue mayor en la clase D de cáscara (24.37 ± 0.5 %) mientras que el menor contenido se encontró en la clase A de semilla (19.33 ± 3.3%). El contenido de ácidos

grasos saturados sí cambia significativamente según la fracción analizada ($p \leq 0.05$) siendo superior en la fracción de semilla. Por otro lado, entre clases no se observaron tales diferencias. En la comparación de las combinaciones de clases y fracciones las diferencias fueron significativas, pero poco claras desde un punto de vista estadístico.

En el análisis estadístico de los ácidos grasos mono y poliinsaturados se observaron los mismos resultados que en el caso de los saturados, es decir, diferencias claras y significativas sólo entre las fracciones de cáscara y semilla. El porcentaje de monoinsaturados es superior en la primera con un máximo de (63.98 ± 2.7 %) en la clase D, mientras que el de insaturados en la segunda, con un máximo de (49.19 ± 7.3 %) en la clase D, para el caso de los poliinsaturados, el máximo en cáscara se encuentra en la clase B ($17.22 \pm 0.6\%$) mientras que para la semilla este se encuentra en la clase D ($34.73 \pm 1.4\%$).

Por su alto contenido de ácidos grasos monoinsaturados, el aceite de cáscara podría ser considerado altamente nutritivo, ya que tiene una gran similitud con el aceite de pulpa y este es comparable al aceite de olivo (Nietzel, 2010), mientras que el aceite de semilla tiene un alto contenido de ácidos grasos biofuncionales; pese a tener un mayor proporción de ácidos poliinsaturados que lo hacen propenso a la oxidación, también contiene ácido erucico (9.81 %) aunque se ha observado que los aceites que poseen un alto contenido de este ácido son resistentes a la oxidación y son más estables a altas temperaturas (Fire, 2015).

Dado que los mamíferos no pueden sintetizar el ácido linoleico y el α -linolénico lo deben obtener a través de la dieta de donde son absorbidos e incorporados al metabolismo, como precursores de otros ácidos grasos, a través de reacciones catalizadas por enzimas. A partir del ácido linoleico se genera ácido γ -linolenico y finalmente se sintetiza ácido araquidónico, por otra parte, el α -linolénico se convierte en ácido eicosapentaenoico (EPA). El metabolismo del EPA origina a los ácidos docosapentaenoico y docosahexaenoico (Nagao & Yanagita, 2008).

Los ácidos grasos insaturados (PUFA) propician un entorno favorable para el funcionamiento de proteínas presentes en la membrana celular ya que mantienen la fluidez y regulan la expresión génica y la señalización. Por lo anterior los PUFA son capaces de regular la respuesta inmunitaria, mediante sus derivados de cadenas de más de 20 carbonos; eicosanoides, que incluyen compuestos como las prostaglandinas, tromboxanos,

leucotrienos y otros derivados (Calder, Kremmyda, Vlachava, Noakes y Miles, 2011). Los eicosanoides son reguladores de la duración e intensidad de respuesta inflamatoria, así como de la acción de las células dendríticas, por lo que los aceites de cáscara y semilla podrían ser una fuente de precursores de estos compuestos, aunque por la misma acción que tienen sobre el sistema inmune en especial los derivados de ácidos grasos $\Omega 6$ que son relativamente abundantes en las muestras, deberán orientarse a poblaciones específicas.

Con la información obtenida a partir de la experimentación realizada, para cada clase se determinó lo siguiente:

Cáscara clase A, de acuerdo a sus características de textura, contenido de grasa y bajo contenido de materia seca y perfil de ácidos grasos, podría ser utilizada para elaborar biodiesel.

Cáscara clase B, esta clase presentó la textura más adecuada para la extracción de aceite, además de tener un menor contenido de humedad, en cuanto actividad antioxidante resultó ser alta, pero baja en contenido de fenoles, en ácidos grasos es de las muestras de cáscara con mayor contenido de poliinsaturados por lo que su aplicación estaría orientada a explotar su actividad antioxidante quizás como ingrediente funcional.

Cáscara clase C, en esta clase la textura también fue apropiada para la extracción de aceite, pero no se puede perder de vista el alto contenido de fenoles que presenta, además de un buen desempeño en las pruebas de actividad antioxidante, el bajo contenido de humedad, por lo que se sugiere se use como fuente de fenoles o como antioxidante en alimentos o incluso como anticorrosivo.

Cáscara clase D, en esta clase se presenta un alto contenido de humedad, grasa y poca materia seca, por lo que podría extraerse aceite, al presentar también un buen contenido de fenoles y actividad antioxidante, los remanentes de la extracción podrían utilizarse como antioxidantes de alimentos.

Semilla clase A, tiene un bajo contenido de humedad, aunque en contraste un contenido mayor de materia seca a las otras clases, tiene un alto contenido de fenoles y muestra actividad antioxidante, en cuanto a ácidos grasos tiene un mayor contenido de monoinsaturados, por lo que podría servir como fuente de ácidos grasos para enriquecer otros aceites.

Semilla clase B, en este caso no hay un buen contenido de grasa, el contenido de humedad es alto, y tiene el menor contenido de fenoles, sin embargo, presenta actividad antioxidante y un buen contenido de ácidos grasos monoinsaturados, por lo que los usos a los que podrían destinarse podrían estar relacionados con usos cosméticos o como fuente de colorante.

Semilla clase C, esta clase presenta un contenido de humedad intermedio, así como el contenido de materia seca, en cuanto a contenido de grasa es de los mayores, tiene un bajo contenido de fenoles y actividad antioxidante baja, pero en ácidos grasos presenta el mayor porcentaje de mono y poliinsaturados, por lo que podrían aprovecharse los distintos ácidos grasos para aplicaciones cosméticas y como fuente de ácidos grasos para enriquecer el aceite.

Semilla clase D, presenta un alto contenido de humedad, bajo contenido de materia seca, alto contenido de grasa y de fenoles, así como la mayor actividad antioxidante, en cuanto al contenido de ácidos grasos tiene un alto contenido de poliinsaturados y ácidos grasos saturados por lo que se sugiere esta clase para usos farmacéuticos.

VII Perspectivas para el desarrollo de una aplicación

Aunque el valor aproximado de la producción de Jalisco fue de 1,925,039.81 pesos (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera [SIAP], 2017), como ya ha mencionado Macías (2015) el apoyo de la exportación de aguacate sobre el comercio Nacional pone en desventaja a los productores al sujetarlos a un modelo de agromaquila, ante esta situación se debe incrementar el valor agregado de los productos.

Actualmente hay 19300 ha de aguacate en Jalisco de acuerdo con datos de la Asociación de Productores Exportadores de Aguacate de Jalisco (comunicación personal 22 de mayo del 2017), en 2016 se produjeron 120 mil toneladas, de las cuales, 63 mil fueron destinadas a exportación, mientras que 57 mil fueron para mercado nacional. Del total producido, 5% (6000 toneladas) se destinó a la fabricación de aceite y guacamole, como se estableció a partir de los resultados de este trabajo; en promedio la cáscara constituye el 16.05 % y la semilla 17.15%, se puede decir que se generan alrededor de 963 ton de cáscara, y 1029 ton de semilla, sin incluir los frutos que son descartados y destruidos durante la producción. A partir de estos cálculos se infiere que el volumen de cáscara y semilla de aguacate constituye una materia prima abundante como sustrato para la extracción de moléculas (Peschel et al., 2006). Esta opción de aprovechamiento representa una solución potencial a la problemática.

Apak et al. (2013) menciona que una de las condiciones para que un antioxidante fenólico sea efectivo, es que este debe reaccionar más rápido que las biomoléculas con los radicales libres, aunque en este estudio se observó que había una reacción instantánea con los radicales, se recomienda estudiar la cinética de los fenoles individuales en los extractos contra alguna molécula real, para determinar la capacidad antioxidante efectiva.

Concerniente al contenido de ácidos grasos, a pesar de que se encontró un alto contenido de ácidos grasos monoinsaturados, no se recomienda el aceite de aguacate de semilla y cáscara para consumo alimenticio antes de realizar un estudio toxicológico, ya que de acuerdo con Loittanzion, et al. (2008) en la superficie de los frutos, generalmente se encuentran fenoles libres con mayor toxicidad que los fenoles enlazados que se encuentran en la pulpa. Además de que la variedad y porcentaje de algunos ácidos grasos en semilla, debe ser estudiada con cuidado.

Con la información obtenida hasta ahora se pueden hacer diferentes propuestas de aplicaciones como se verá a continuación:

7.1 Diseño e implementación de una biorefinería.

Debido a que la industria del aguacate se ha desarrollado aceleradamente en los últimos años, no se puede desaprovechar el potencial que representa el uso de los residuos de la producción como fuente de moléculas bioactivas.

Una aplicación posible es en la producción de biodiesel, ya que estudios como el de Knothe (2013) y Rachimoellah, Resti, Zibbeni & Susila (2009) han sentado precedentes de que es posible usar los residuos de aguacate para la producción de biodiesel, sin embargo existen limitaciones como el contenido de humedad de la semilla y de acuerdo con Perea-Moreno, Aguilera-Ureño y Manzano-Agugliano (2016) el contenido de cenizas en semilla eleva las necesidades de mantenimiento de los equipos, ya que se deposita y requiere limpieza frecuente.

Adicionalmente a la producción de biodiesel, se pueden extraer moléculas bioactivas para numerosas aplicaciones, la diversidad en ácidos grasos de la semilla, incluyendo el alto contenido de ácido linoleico,

En un caso análogo de una planta de amplia producción, como es el bagazo del agave, residuo de la producción de tequila, se ha comenzado a utilizar este como soporte inerte para la obtención de metabolitos de interés por fermentación sólida, por lo que podría aprovecharse en menor medida, el porcentaje de desechos de aguacate, semilla y cáscara como soporte en los procesos fermentativos.

7.2 Producción de aceite comestible y enriquecimiento del mismo.

Debido a que el aceite de la cáscara tiene un perfil de ácidos grasos similar al de la pulpa, valdría la pena considerarlo como aceite de grado alimenticio, sin embargo, requiere que se hagan pruebas toxicológicas y de calidad para verificar que soporta temperaturas de fritura tal como el aceite de pulpa, y que puede ser extraído por métodos que no requieran la utilización de disolventes.

El aceite de semilla tiene un contenido mayor de ácidos grasos insaturados, así como de antioxidantes, cuya función evolutiva de acuerdo con Barlow (2002) es proteger a la semilla, se sabe que esta cantidad de antioxidante genera un sabor astringente, por lo que sería poco probable usarlo como aceite comestible sin encapsularlo, además de que el alto contenido de ácido linolénico lo hace menos atractivo por la asociación a diferentes enfermedades. Adicionalmente, el aceite de semilla puede funcionar como materia prima

para enriquecer el aceite comestible, ya que con la ayuda de enzimas lipasas (Hasan, Shah, y Hamed, 2005), se pueden tomar ácidos grasos de interés y colocarlos selectivamente en triacilglicéridos que enriquecen el contenido de determinado ácido en el aceite.

7.3 Ingrediente funcional

El aceite de cáscara y semilla contiene ácidos grasos monoinsaturados que se ha observado reducen las lipoproteínas de baja densidad (LDL), mientras que los ácidos grasos poliinsaturados, mantienen las lipoproteínas de alta densidad (HDL) (Ferreyra et al, 2015), la importancia de este efecto radica en que las lipoproteínas LDL tienden a transferir el colesterol al tejido periférico, lo que está asociado a la aparición de enfermedades cardiovasculares y aterosclerosis, por otro lado las proteínas HDL, remueven el colesterol de las membranas y otras lipoproteínas, posteriormente por efecto de una enzima, este es esterificado y cambiando a una estructura esférica, finalmente las HDL lo transportan al hígado donde es excretado (Birner-Gruenberg, Schittmayer, Holzer y Marsche, 2014).

Adicionalmente el aceite de cáscara y semilla, tiene un alto contenido de fenoles, algunas investigaciones consideran que el efecto benéfico de los fenoles al ser ingeridos no es dado por su actividad antioxidante, sino por el efecto que tiene sobre la microbiota, haciéndola más diversa y propiciando la síntesis de productos benéficos por estos microorganismos (Desjardins, 2017), por lo que, al incorporarlo a la dieta, habría una mejora a la salud.

Sin embargo, para poder ser utilizados como ingrediente funcional es necesario demostrar que no representa un riesgo a la salud y que no tiene altos niveles de toxicidad y genotoxicidad, ya que como se pudo apreciar en el estudio de Padilla-Camberos, Martínez-Velazquez, Flores –Fernández y Villanueva-Rodríguez (2013) hay diferencias en cuanto a niveles de toxicidad entre extractos etanólicos y acuosos, por los componentes que se obtienen durante los diferentes métodos de extracción.

Por otro lado es necesario identificar los fenoles individuales que se encuentran en la muestra, ya que se ha observado que en ocasiones por las tendencias de estos a interactuar entre sí (Hernández, Padilla, Bravo, Espinosa & Villanueva, 2014) hay un efecto antagónico donde quedan menos sitios activos para reaccionar con el radical.

Posteriormente sería necesario evaluar las interacciones que ocurren entre los fenoles y la matriz del alimento, incluyendo aditivos, edulcorantes etc., ya que como refieren Beltran, Padilla, Urias y Villanueva(2014) en su investigación de bebida de mucílago de nopal y

semilla de aguacate, ocurría una competencia entre los fenoles por los sitios activos de la pectina de nopal que en conjunto daban la actividad biológica a la bebida, se observó que otros componentes interfieren con esta actividad.

7.4 Diseño de una crema antibacterial, con protector solar

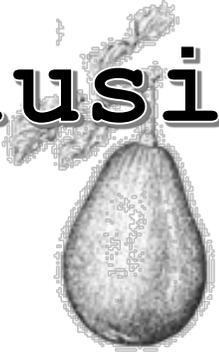
La piel es el órgano más expuesto al daño oxidativo, aunado a diferentes patologías, la magnitud del daño se ve amplificado; apoptosis queratinocitaria, acumulación de lesiones oxidativas en moléculas como el colágeno y la elastina, despolimerización de mucopolisacáridos que provocan fibrosis arteriolar (Castellanos, & Alcalá, 2010).

Los polifenoles han demostrado disminuir el daño inducido por radiación solar sobre plásmidos, algunos extractos de aguacate han demostrado protección contra los daños por rayos UV-B, ciertos fenoles contenidos en extractos metanólicos de semilla tienen influencia sobre los keratinocitos humanos y los fibroblastos (Ramos-Jerz, Villanueva, Jerz, Winterhalter & Deters, 2013) estas son células que participan en la remodelación y regeneración de la piel al momento de cicatrizar., además se ha observado que el ácido linoleico, abundante en los aceites de semilla y cáscara se encuentra relacionado con la formación de una matriz intracelular que mantiene la permeabilidad de la barrera epidérmica (Neitzel, 2010). Los ácidos grasos son necesarios en la epidermis para mantener un potencial electroquímico adecuado en las membranas, evitando la formación de radicales (Insua, Castaño & Tejero, 2014)

Por lo que se podrían aprovechar las propiedades antioxidantes de la cáscara y semilla de aguacate, para formular un producto que proteja contra la radiación excesiva, adicionado junto con ácidos grasos que mantengan la estabilidad de la membrana (poliinsaturados), la propuesta se basa en que hay evidencia de regeneración celular, aunque de acuerdo con Villanueva (2017) los polifenoles extraídos de semilla tienen un efecto similar a un medicamento, aún no son aptos para remediar enfermedades.

Dado que los extractos son de naturaleza polar, se propone adicionarlos como microencapsulados, de esta forma se estabilizan y controla su liberación evitando interferencias ambientales que afecten a los antioxidantes, además de que se aprovechan mejor sus propiedades si se pudieran colocar en la fase aceite, ya que por la paradoja que exponen los antioxidantes, estos son más efectivos en aceites.

Conclusiones



VIII Conclusiones

Se evaluó el contenido de fenoles, actividad antioxidante y contenido de lípidos, dicha información permitió identificar usos posibles para los residuos de la industrialización del aguacate que pudieran generar valor agregado, cumpliéndose así el objetivo principal del estudio.

Se observó el efecto de los cuatro grados de calidad comercial, concluyendo lo siguiente : en el contenido de fenoles totales, la cáscara clase C y la semilla clase D, poseen el mayor, por otra parte, la determinación de actividad antioxidante en general situó a la clase B de cáscara y semilla de clase D como las de mayor actividad antioxidante, en cuanto el contenido de ácidos grasos se determinó que la clase D de cáscara tiene el mayor contenido de ácidos grasos saturados y de monoinsaturados, mientras que para poliinsaturados el máximo estuvo en la clase D de semilla. Determinando así que la calidad influye sobre las variables estudiadas.

Se conoció el contenido de fenoles totales y actividad antioxidante de cada fracción reconociendo el potencial como fuente de compuestos bioactivos, de esta forma y con base en la información obtenida se hicieron propuestas de usos o aplicaciones para cada fracción perteneciente a cada clase.

Los espectros infrarrojos permitieron detectar bandas características en cada muestra identificando que las estructuras que se encuentren probablemente en mayor proporción son flavonoides o polifenoles.

La extracción y caracterización de la grasa de cáscara y semilla permitieron obtener el perfil de ácidos grasos de cada fracción, gracias a éstos se concluyó que el contenido de ácidos grasos de los residuos de la producción de aguacate es similar al aceite de pulpa ya que poseen un alto contenido de ácido oleico, palmítico y linoleico, encontrando diferencias en el perfil de ácidos grasos de acuerdo a las fracciones, adicionalmente se identificó una gran variedad de ácidos grasos en semilla.

Prospectivas

En prospectiva, se sugiere además un estudio con radicales más ajustados a la realidad para determinar su capacidad real para remover radicales, si es que la hay ya que se sabe que en sistemas biológicos, por su reactividad los fenoles tienden a enlazarse a proteínas, además el estudio no determina el efecto de la concentración, pues *in vivo* no se ven estas

concentraciones, por lo que aunque que es factible la utilización de los residuos de la producción de aguacate como antioxidantes, aún no se sabe el efecto real que tienen estos en los organismos.

Se sugiere elaborar estándares de espectrometría de infrarrojo de los extractos de las fracciones de aguacate que permitan diferencias a la variedad Hass del Sur de Jalisco de otras regiones que faciliten su diferenciación y estudio, así como aplicaciones industriales.

Un mayor conocimiento del contenido de fenoles en las muestras requeriría la combinación de diferentes técnicas como espectrometría de masas, que aporten mayor información que permita encontrar un uso o aplicación específica.

Bibliografía

1. Ackman, R., Sebedio, J. y Kovacs, M. (1980). Role of eicosenoic and docosenoic fatty acids in freshwater and marine lipids. *Marine Chemistry*,9(1),57-164
2. Afanas'ev ,I., Dorozkho, A., Brodskii, A., Kostyuk ,V. y , Potapovitsch ,A(1989) .Chelating and free radical scavenging mechanism of inhibitory action of rutin and quercetin in lipid peroxidation. *Biochemical Pharmacoloty*,38(1),763-1769
3. ANIAME. (2002). El aceite de aguacate en México.Revista ANIAME.Vol 8.37
4. AOAC. (1990). Official methods of analysis of the association of official analytical chemists, EU AOAC.2:1298.
5. Apak, R., Gorinstein, S., Böhm, V., Schaich, K., Ozyürek, M. y Guçü, K. (2013). Methods of measurement and evaluation of natural antioxidant capacity activity (IUPAC Technical Report). *Pure Applied. Chemistry*.5(9),57-998
6. Arbo, M. (2016).Eclerénquima. Recuperado el 9 de enero de 2017 de <http://www.biologia.edu.ar/botanica/tema12/12-1escler.htm>
7. Ariza, O., López, H., Coyotl, C., Ramos, C. y Martínez, Z. (2011). Effect of different extraction methods on the fatty acid profile in the avocado (*Persea americana* Mill. Var. Hass) oil. *Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 2(2),263-276
8. Arnous, A., Mackris, D.P., y Kefalas, P. (2002). Correlation of pigment and flavanol content with antioxidant properties in selected aged regional wines from Greece. *Journal of Food Composition and Analysis*,15(6),55-665.

9. Ashton, O., et al. (2006). Pigments in avocado tissue and Oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.54.10151-10158
10. Asociación de Productores y Empacadores Exportadores de aguacate de México. (2016). Tabla de calibres de los aguacates para su exportación a EUA, Japón, Canadá y la Unión Europea. APEAM. Recuperado el 10 de septiembre del 2017 de <https://www.facebook.com/apeamac/photos/a.428638760618778.1073741828.417096028439718/566945813454738/>
11. Barlow, C. (2002). *The Ghosts of Evolution: Nonsensical Fruit, Missing Partners, and Other Ecological Anachronisms*
12. Barmore, C. (1976). Avocado fruit maturity. En: Sauls, J., Phillips, R., y Jackson, L.(ed). *The Avocado: Proceedings of the 1st International Tropical Fruit Short Course*. Universidad de Florida.103-109
13. Barrientos, A., Villanueva, E., y Avita, C. (1996). Anatomía del fruto de aguacate ¿Drupa o baya? *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 2(2),189-198
14. Barrientos-Priego, A., Muñoz-Pérez, R., Reyes-alemán, J., Borys, M. W. y Martínez-Damián, T. (2008). Taxonomía, cultivares y portainjertos. En: En: Téliz y Mora (Coord.) *El Aguacate y su manejo integrado*. Segunda Ed. México: Mundi Prensa México
15. Bauernfeind, J., Brubachen, G., Kläui, H. y Marusich, W. (1971). *Use of Carotenoids en Carotenoids*.Suiza: Springer Basel
16. Beltrán, A., Padilla, E., Urias, S. y Villanueva, S. (2014) Effect of the structure and some physicochemical parameters in the formation of the complex pectin-polyphenol and its impact on the hypoglycemic properties in a functional drink. En el congreso 6° Food Science, Technology and Safety en CINTERMEX, Monterrey, Nuevo León
17. Bernardo-Gil, M., Ribeiro, M. y Esquivel, M. (2002). Produção de extractos para a indústria alimentar: uso de fluidos supercríticos. *Indústria Alimentar. Boletim de Biotecnologia*, 73,14-21
18. Blainsky, A., Cristiny, G. y Palazzo, J. (2013). Application and analysis of the Folin Ciocalteu method for the determination of the total phenolic content from *Limonium Brasiliense*.*Molecules*,18(6),6852-6865
19. Bockisch, M. (1998). *Fats and oils handbook*. Alemania: AOCS Press
20. Bost, J., Smith, N. y Crane, J. (2013). *History, distribution and uses en The Avocado: Botany, Production and uses (2 Ed.)*. Reino Unido: Cabi

21. Brand-Williams. W., Cuvelier M. y Berset C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm. - Wiss. Technol*, 28: 25-30.
22. Caballero-Valdés, E., Olivares-Mirallas, A., Soto-Maldonado, C. y Zúñiga-Hansen, M. (2017). Solid-liquid extractions of polyphenols at low pressure. En: Cuevas-Valenzuela, J., Vergara-Salinas, J. y Pérez-Correa, J. *Advances in Technologies for Producing Food Relevant Polyphenols*.EU: CRC Press
23. Cajuste, J. y López, L. (1995). Efecto de las aplicaciones de diferentes fuentes de calcio en precosecha sobre la calidad de fruto de aguacate 'Fuerte'. Recuperado el 15 de diciembre de 2017 de http://www.avocadosource.com/journals/cictamex/cictamex_1995/agroind_1_95.pdf.
24. Calder P.C., Kremmyda L.S., Vlachava M., Noakes P.S., Miles E.A. (2010). Is there a role for fatty acids in early life programming of the immune system?. *Proceedings of the Nutrition Society*, 69,373–380
25. Calderon-Oliver, M., Escalona-Buendia, O., Medina-Campos, J., Pedraza-Chaverri, Pedroza-Islas, R. y E. Ponce-Alquicira. (2016). Optimization of the antioxidant and antimicrobial response of the combined effect of nisin and avocado byproducts. *LWT - Food Science and Technology*, 65, 46-52.7
26. Cardemil, G. (2003). La industria mundial de la palta y Nueva Zelanda. Recuperado el 15 de mayo del 2015 de <http://www.avocadosource.com/Journals/SpecialIndustryReports/CardemilGustavo2003.pdf>
27. Castellanos, G. y Alcalá, D. (2010). Antioxidantes en dermatología. *Dermatología Cosmética y Quirúrgica*,8(4),272-277
28. Cerdas M., Montero M., Díaz E. 2006. Manual de manejo pre y poscosecha de aguacate (*Persea americana*). FITTACORI-UCR-CNP. Imprenta Nacional, San José, Costa Rica
29. Chanderbali, A., Soltis, D., Soltis, P. y Wolstenholme, B. (2013) *Taxonomy and Botany*.En: Schaeffer, B. Wolstaholme, N y Whiley, A. *The Avocado: Botany, Production and uses* (2ª_Ed.). Reino Unido: Cabi
30. Chávez, P. (2011). Evaluación antioxidante y antimicrobiana en extractos de residuos de aguacate. (Tesis de Maestría). Instituto Tecnológico de Sonora.México
31. Chow, C.(editor). (2008). *Fatty acids in foods and their health implications* (3ª ed).EU: CRC Press

32. Christie, W. (1989). Gas chromatography and lipids, a practical guide. Escocia: The Oily Press
33. Ciprián, D. (2017). Clasificación comercial de aguacates (*Persea americana*) variedad Hass de la región sur de Jalisco. Perfil antioxidante y lipídico de la pulpa y el aceite virgen. (Tesis de Licenciatura). Universidad de Guadalajara. México
34. Clark, C., McGlone, V., Requejo-Tapia, C., White, A., y Woolf, A. (2003). Dry matter determination in 'Hass' avocado by NIR spectroscopy. *Postharvest Biology and Technology*, 29, 300-307
35. Conde, H y Guerrero-Beltrán. (2009). Extracción supercrítica de antioxidantes a partir de hierbas y especias. En: *Temas selectos de Alimentos*
36. Cowan, A y Wolstenholme, B. (2016). Avocado. *Encyclopedia of Food and Health* modulo de referencia en *Food Science*. 294-300
37. Cuevas-Valenzuela, J., Vergara-Salinas, J. y Pérez-Correa, J. (2016). *Advances in Technologies for Producing Food Relevant Polyphenols*. EU: CRC Press
38. De Francesco, V. (2000). Embrión y semilla. Argentina: Colegio Nacional Buenos Aires. Recuperado el 29 de junio del 2017 de www.cnba.uba.ar
39. De la Fuente, M. (2011). Los antioxidantes y la función inmunitaria. En: Marcos, A. *Inmunonutrición: En la salud y la enfermedad*. España: Editorial Médica Panamericana
40. Decker, E., Warner, K., Richards, M. y Shahidi, F. (2005). Measuring Antioxidant effectiveness in food. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 4303-4310
41. Desjardins, Y. (24 de agosto del 2017) "Prebiotics, the next wave of functional foods: overview of markets and new perspectives". En: Higuera, I. *Celebración del 41° aniversario del CIATEJ*
42. Ding, H., Young-Won, Ch., Kinghorn, A. D., y D'Ambrosio, S. M. (2007). Chemopreventive characteristics of avocado fruit. *Seminars in Cancer Biology*, 17, 386-394.
43. Djilas, S., Canadanović-Brunet, J. y Četković, G. (2009). Byproducts of fruit processing as a source of phytochemicals. *Chemical Industry & Chemical Engineering Quarterly*, 4, 191-202
44. Endo, E., Cortez, D., Ueda-Nakamura, T., Nakamura, C., y Dias, F. (2010). Potent antifungal activity of extracts and pure compound isolated from pomegranate peels and synergism with fluconazole against *Candida albicans*. *Research in Microbiology*, 161, 534-40

45. Ferreyra, R., et al. (2015). Identificación de factores de prescosecha que afectan la composición lipídica y compuestos bioactivos de la palta. En: Defilippi, R., Ferreyra, R. y Rivera, S. (2015). Optimización de la calidad de la palta “Hass” herramientas para enfrentar nuevos desafíos. Chile: INIA
46. Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2017). Avocado. Recuperado el 15 de mayo del 2017 de <http://www.fao.org/faostat/en/#home>
47. Foti, M., Daquino, C., Mackie, I., Dilabio, G. y Ingold, K. (2008). Reaction of phenols with the 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl radical. Kinetics and DFT calculations applied to determine ArO-H bond dissociation enthalpies and Reaction Mechanism. *Journal of Organic Chemistry*, 73, 9270-92982
48. Galindo-Tovar, M., Arzate-Fernández, A., Ogata-Aguilar, N. y Landero-Torres, I. (2007). The avocado (*Persea Americana* Lauraceae) cop in Mesoamerica: 10 000 years of history. *Harvard Papers in Botany*, 12(2), 325-334
49. García-Fajardo, J. A., Ramos-Godínez, M. del R., y Mora-Galindo, J. (1999). Estructura de la semilla de aguacate y cuantificación de la grasa extraída por diferentes técnicas. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 5, 123-128
50. Gouegni, E y Abubakar, H. (2013). Phytochemical, Toxicological, Biochemical and Haematological Studies on avocado (*Persea americana*) in Experimental animals. *Nigerian Food Journal*. 31(1), 64-69
51. Gunstone, F. (2004). *The chemistry of oils and fats*. Reino Unido: Blackwell Publishing
52. Hasan, F., Shah, A. y Hamed, A. (2005). Industrial application of microbial lipases. *Enzyme and Microbial Technology*. 39, 233-251
53. Hershkovitz, Friedman, Goldschmidt, Feygenberg y Pesis, 2011)
54. Hershkovitz, V., Friedman, H., Goldschmidt, E., Feygenberg, O. y Pesis, E. (2011). Effect of seed on ripening control components during avocado fruit development. *J. Plant Physiology*. 168(18), 2177-83
55. Huang, D., Ou, B. y Prior, R. (2005). The Chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53, 1841-1856
56. Hurtado, E., Carrasco, A. y Fernández, A. (2011). Profiling LC-DAD ESI-TOF method for the determination of phenolic metabolites from avocado (*Persea Americana*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 59, 2255-2267
57. Jiménez-Arellanes, A., Luna-Herrera, J., Ruiz-Nicolás, R., Cornejo-Garrido, J., Tapia, A., Yépez-Mulia, Y. (2013). Antiprotozoal and antimycobacterial activities

- of *Persea americana* seeds. *BMC Complementary and Alternative Medicine* , 13,109
58. Jiménez-Arellanes, A., Luna-Herrera, J., Ruiz-Nicolás, R., Cornejo-Garrido, J., Tapia, A y Yépez-Mulia, L. (2013). Antiprotozoal and antimycobacterial activities of *Persea americana* seeds. *BMC Complementary and Alternative Medicine* .13:109
 59. Knothe, G. (2013). Avocado and olive oil methyl esters. *Biomass and Bioenergy*. 58.143-148.
 60. Konigsberg, M. (2008). Radicales libres y estrés oxidativo: aplicaciones médicas. México: El Manual Moderno
 61. Kosińska, A., et al. (2012). Phenolic compound profiles and antioxidant capacity of *Persea Americana Mill.* Peels and seeds of two varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*,4613-4619
 62. Laboratorio Nacional de Genómica para la Biodiversidad. Aguacate. Recuperado el 30 de abril del 2015 de www.langebio.cinvestav.mx/?pag=255
 63. Lattanzion, V., Kroon, P., Quideau, S. y Treutter, D. (2008). Plant phenolics secondary metabolites with diverse functions en *Recent Advances in Polyphenol Research* (1). Canadá: Wiley-Blackwell.3-6
 64. Lerma-García, M. (2012). Characterization and authentication of olive and other vegetables oils. Alemania: Springer Theses
 65. Litz, R., y Gómez-Lim, M. (2007) Avocado En Nagata, T, Lörz, H y Widholm, J(ed.). *Biotechnology in Agriculture and Forestry*.Berlín: Springer-Verlag
 66. Lora, A. (2014). Reciclaje e industrialización de residuos orgánicos: actualización monográfica sobre la semilla de aguacate: *persea americana*, variedad Hass. (Tesis de licenciatura). Universidad Nacional Autónoma de México.México
 67. Lu, Q., et al. (2009). California Hass Avocado: Profiling of carotenoids, tocopherols, fatty acids and fat content during maturation and from different growing áreas. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*,10406-10413
 68. Luthria, D. (2004). Oil extraction and analysis critical issues and comparative studies.US Department of Agriculture AOCS Press
 69. Macías, A. (2015). La agroindustria del aguacate en el Sur de Jalisco. México: Editorial Universitaria, Universidad de Guadalajara
 70. Majors, R. (2013). *Sample preparation fundamentals for chromatography*. Canadá: Agilent Technologies Inc.

71. Manzano, A. (2016). Rendimiento de extracción, perfil de ácidos grasos y oxidación del aceite virgen de aguacate (*Persea americana* var. *Hass*) cultivado en el sur de Jalisco. (Tesis de Licenciatura). Universidad de Guadalajara.México
72. Marcos, A. (2011). Inmunonutrición en la salud y la enfermedad. España: Editorial Médica Panamericana
73. Marroquín-Pimentel, F. (1999). Factores que favorecen la incidencia de roña (*Sphaceloma perseae* Jenk) en el cultivo de aguacate (*Persea americana* Mill) “Hass” en tres regiones agroclimáticas de Michoacán, México.México: Revista Chapingo Serie Horticultura,5,309-312
74. Meyer, M., y Terry, L. (2010). Fatty acid and sugar composition of avocado, cv. Hass, in response to treatment with an ethylene scavenger or 1-methylcyclopropene to extend storage life. *Food Chemistry*, 121(4), 1203–1210.
75. Montedoro, G., Servili, M., Baldioni, M. y Miniati, E. (1992). Simple and hydrolyzables phenolic compounds in virgin olive oil 1. Their extraction, separation and quantitative and semiquantitative evaluation by HPLC. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*,40,1571-1576
76. Mueller, T. (2012). Extra virginity: The Sublime and Scandalous World of Olive Oil.EU: W. W. Norton & Company
77. Nagendran, B., Sundram, K. y Samman, S. (2006). Phenolic compounds in plants and agricultural byproducts: Antioxidant activity, occurrence and potential uses. *Food Chemistry*,99, 290-298
78. Neitzel, J. (2010). Fatty acid molecules: A role in cell signaling. *Nature Education*.3(9),57
79. Ortega-Mendoza, S. Jiménez-García, S., Miranda-López, R., Sánchez-Pérez, T. y Villagómez-Torres, A. (2008). Análisis sensorial, fisicoquímico e instrumental de aguacate variedad Hass y criollo, cosecha 2007. X Congreso Nacional de Ciencia y tecnología de Alimentos, II Simposium Internacional de Ciencias Químicas. 29 al 30 de mayo. Gómez Palacios, Durango. *Revista Salud Pública y Nutrición*, Editorial Salud Pública y Nutrición/Universidad Autónoma de Nuevo León
80. Padilla-Camberos, E., Martínez-Velázquez, M., Flores-Fernández, J. y Villanueva-Rodríguez, S. (2013). Acute toxicity and Genotoxic activity of avocado seed extract(*Persea americana* Mill, c.v. Hass).Hindawi Publishing Corporation, *The Scientific World Journal*.2013.doi: 10.1155/2013/245828

81. Pahuá-Ramos, M. (2012). Hypolipidemic effect of avocado (*Persea americana* Mill) seed in a hypercholesterolemic mouse model. *Plant Foods for Human Nutrition* ,67 ,10-16
82. Pande, G. y Akoh, C. (2009). Antioxidant capacity and lipid characterization of six Georgia Pomegranate cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* ,57,9427-9436
83. Paz, M. et al. (2014). The avocado and its waste: An approach of fuel potential, application En G. Lefebvre et al. (eds.), *Environment, Energy and Climate Change II: Energies from New Resources and the Climate Change, The Handbook of Environmental Chemistry* 34: 199–224,
84. Pedroza, M., Carmona, M., Salinas, M. y Zalazuin, A. (2011). Use of dehydrated waste grape as a natural additive for producing Rosé Wines: Study of extraction conditions and evolution. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* ,59, 10976-10986
85. Peil, R. y Galvez, J. (2005). Reparto de materia seca como factor determinante en la producción de las hortalizas de fruto cultivadas en invernadero. *Revista Brasileira de Agrociência*.11,1-5
86. Pellegrini, N., Re, R., Yang, M., Rice-Evans, C. (1999). Screening of Dietary carotenoids and carotenoid- rich fruit extracts for antioxidant activities applying 2-2'-azinobis (3-ethylenebenzothiazoline- 6-sulfonic acid radical cation decolorization assay. *Methods in enzymology*, 299,379-389.
87. Pellegrini, N. et al (2003) Total antioxidant capacity of plant foods, beverages and oils consumed in Italy assessed by 3 different in vitro assays. *Journal of Nutrition*,133,2812-2819
88. Perea-Moreno, A., Aguilera-Ureña, M. y Manzano-Agugliano, F. (2016). Fuel properties of avocado Stone. *Fuel*,186,358-364
89. Peschel, W, et al. (2006). An industrial approach in the search of natural antioxidants from vegetable and fruit wastes. *Food Chemistry*,97,137-150
90. Popenoe, W y Zentmyer, G. (1997). Early history of the avocado. *EU: California Avocado Society Yearbook*, 81, 163-175
91. Prior, R., Wu, X. y Schaich, K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in food and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* ,10,4290-302

92. Productos alimenticios no industrializados para uso humano – fruta fresca – aguacate (*Persea americana* Mill) – especificaciones. (cancela a la NMX-FF-016-SCFI-2002). Norma Oficial Mexicana NMX-FF-016-SCFI-2006. Diario Oficial de la Federación, 21 de julio del 2016
93. Pushkar, B., Narain, N., Rocha, R. y Paulo, M. (2001). Characterization of oils from the pulp and seed of avocado fruit (Cultivar Fuerte). *International Journal of Fats and Oils*,52(3-4).doi: 0.3989/gya. 2001.v52. i3-4.353
94. Rachimoellah, H. et al. (2009). Production of biodiesel through transesterification of avocado (*Persea gratissima*) seed oil using base catalyzt. *Jurnal Teknik Mesin*,11(2), 85-90
95. Ramírez-Cortés, B., Caro-Velarde, M., Valdivia-Reynoso, G., Ramírez-Lozano, M., Machuca-Sánchez, M. (2011). Cambios en tamaño y características químicas de cálices de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) durante su maduración. *Revista Chapingo Serie Horticultura*.17
96. Ramos-Jerz, ME., Villanueva, S., Jerz, G., Winterhalter, P. y Deters, A. (2013) (*Persea americana* Mill. Seed: Fractionation, Characterization, and effects on human keratinocytes and fibroblasts. Hindawi Publishing Corporation, Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine.2013.doi: 10.1155/2013/391247
97. Rockenbach, I, Rodrigues, E., Valdemiro, L., Caliari, V., Genovese, M. de Souza, A. y Fett, R. (2011). Phenolic compounds content and antioxidant activity in pomace from selected red grapes (*Vitis vinifera* L. and *Vitis labrusca* L.) widely produced in Brazil.*Food Chemistry*, 127, 174-179
98. Rodríguez-Sánchez, D. G., Gutiérrez-Urbe, J. A., Pacheco, A., García-Cruz, M. I. Benavides-Lozano, B. L., Hernández-Brenes, C. (2013). Isolation and Structure Elucidation of Avocado Seed (*Persea americana*) Lipid Derivatives That Inhibit *Clostridium sporogenes* Endospore Germination. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61,7403-7411.
99. Romero, S. (2012). Comportamiento fisiológico del aguacate (*Persea americana* mill.) Variedad Lorena en la zona de Mariquita, Tolima. (Tesis de Maestría. Universidad Nacional de Colombia, Colombia. <http://www.bdigital.unal.edu.co/6342/1/790700.2012.pdf>
100. Roth, I. (1977). *Fruits of angiosperms*. Alemania: Gebrüder Borntraeger
101. Salazar-García, S. Medina-Carrillo, R. y Álvarez-Bravo, A. (2016). Evaluación inicial de algunos aspectos de calidad del fruto de aguacate ‘Hass’

- producido en tres regiones de México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 7(2),277-289.
102. Salazar-García, S. Medina-Carrillo, R. y Álvarez-Bravo, A. (2016). Influencia del riego y radiación solar sobre el contenido de fitoquímicos en la piel de frutos de aguacate 'Hass'. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas Pub. Esp.* 13, 2565-2575
 103. Salazar-García, S., González-Durán, I. y Tapia-Vargas, L. (2011). Influencia del clima, humedad del suelo y época de floración sobre la biomasa y composición nutrimental de frutos de aguacate 'Hass' en Michoacán, México. México. *Revista Chapingo Serie Horticultura.* 17,183-194.
 104. Saura-Calixto, F., Goñi I. (2006). Antioxidant capacity of the Spanish Mediterranean diet. *Food Chemistry*, 94, 442-447.
 105. Schaeffer, B. Wolstaholme, N y Whiley, A. (2013). *The Avocado: Botany, Production and uses.*(2^a Ed). Reino Unido: Cabi
 106. Schaich, K., Tian, X. y Xie, J. (2015). Hurdles and pitfalls in measuring antioxidant efficacy: A critical evaluation of ABTS, DPPH and ORAC assays. *Journal of Functional Foods*,18,782-796
 107. Secretaría de Economía. (2012). *Monografía del sector aguacate en México: situación actual y oportunidades de mercado.* México:SE. Recuperado el 17 de mayo del 2015 de ww.economia.gob.mx/files/Monografia_Aguacate.pdf
 108. Sekher, A., Chan, T., O'Brien, P. y Rice-Evans, C. (2001). Flavonoid B-Ring Chemistry and antioxidant activity: Fast reaction kinetics. *Biochemical and Biophysical Research Communications*,282, 1161-1168
 109. Sellappan, S., Akoh, C. y Krewer, G. (2002). Phenolic compounds and antioxidant capacity of Georgia-grown blueberries and blackberries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* ,50, 2432-2438
 110. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. (2017). Cierre de la producción agrícola por estado. Recuperado el 1 de septiembre del 2017 de http://infosiap.siap.gob.mx/aagricola_siap_gb/icultivo/index.jsp
 111. Singh, R., Murthy K., y Jayaprakasha, G. (2002). Studies on the antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum*) peel and seed extracts using in vitro models. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* .50: 81-86

112. Siracusa, L y Ruberto, G. (2014). Plant Polyphenol Profiles as a Tool for Traceability and Valuable Support to Biodiversity. En: Ross, R. Polyphenol in plants, Isolation, Purification and Extract Preparation. EU: Academic Press
113. Smith, N., Williams, J., Plucknett, D. y Talbot, J. (1992). Tropical Forests and their Crops. EU: University Press
114. Stumpf, P., Denzil, D. y Conn, E. (1987). The biochemistry of plants: Physiology of metabolism. EU: Academic Press
115. Tehranifar, A., Zarel, M. Esfandiyari, B. y Nemati, Z. (2010). Physicochemical Properties and Antioxidant Activities of Pomegranate Fruit (*Punica granatum*) of Different Cultivars Grown in Iran. Horticulture, Environment and Biotechnology, 51, 573-579
116. Téliz, D y Marroquín, F (2008). Importancia histórica y socioeconómica del aguacate. En: Téliz, D y Mora, A (Coord.) El Aguacate y su manejo integrado. Segunda Ed. México: Mundi Prensa México
117. Tesfay, S., Bertling, I. y Bower, J. (2011). Effects of postharvest potassium silicate application on phenolics and other antioxidants systems aligned to avocado fruit quality. Post Harvest biology and Technology, 60(2), 92-95
118. Thaipong, K., Boonprakob, U., Crisby, K. Cisneros-Zeballos, L. y Hawkins, D. (2006). Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. Journal of Food Composition and Analysis. 19, 669-675
119. Tian, X. y Schaich, K. (2013). Effects of structure on kinetics and dynamics of the Trolox Equivalent Antioxidant Capacity Assay with ABTS. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 61, 5511-5519
120. Torres, J., Ramos-Romero, S. y Pérez-Jiménez, J. (2016). Key aspects of polyphenols and health. Metabolic fate, mechanisms of action and influence on gut microbiota. En: Cuevas-Valenzuela, J., Vergara-Salinas, J. y Pérez-Correa, J. Advances in Technologies for Producing Food Relevant Polyphenols. EU: CRC Press
121. Universidad de California. (2002). Early history of the avocado in California. Recuperado el 10 de julio del 2017 de <http://ucavo.ucr.edu/General/EarlyHistory.html>
122. Vargas, R. (2013). Patente número 2013-03701.

123. Vargas, Y. y Obaya, A. (2005). Cálculo de parámetros de rapidez en cinética química y enzimática. México: Universidad Nacional Autónoma de México
124. Vieira, F., Borges, G., Copetti, C., Pietro, P., Nunes, E. y Fett, R. (2011). Phenolic compounds and antioxidant activity of the apple flesh and peel of eleven cultivars grown in Brazil. *Scientia Horticulturae*, 128, 261-266.
125. Villa-Rodriguez, J., Molina-Corral, F., Ayala-Zavala, F., Olivas, G. y González-Aguilar, G. (2010) Effect of maturity stage on the content of fatty acids and antioxidant activity of Hass avocado. *Food Research International*, 1231-1238
126. Viñas, P. y Campillo, N. (2008). Gas Chromatography Mass Spectrometry Analysis of Polyphenols in foods. En *Recent Advances in Polyphenol Research (1)*, Reino Unido: Wiley-Blackwell. 140-141
127. Wang, W., Bostic, T. y Gu, L. (2010). Antioxidant capacities, procyanidins and pigments of avocados from different strains and cultivars, *Food Chemistry* ,122 (4),1193-1198
128. Wang, X., Yang, P., Gao, Q. Kuang, T. Shen, S. y He, Y. (2008). Proteomic analysis of the response to high-salinity stress in *Physcomitrella patens*, *Planta*, 228(1),167-177
129. Waterman, P. y Mole, S. (1994). Analysis of phenolic plant metabolites. 1^a ed Blackwell Scientific Publications: Inglaterra. 84-89
130. Wong, M., Requejo, Jackman, C. y Woolf, A. (2010). What is unrefined, extravirgin cold pressed avocado oil. *AOCS*. recuperado el 17 de mayo del 2015 de www.aocs.org
131. Xie, J. y Schaich, K. (2014). Reevaluation of the 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl Free radical assay for antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* ,62,4251-4260
132. Yahia, E.M. and Woolf, A. (2011) Avocado (*Persea americana Mill.*). En: Yahia, E.M. (ed.) *Postharvest Biology and Technology of Tropical and Sub-Tropical Fruits*. Urbana, EU: Woodhead Publishing
133. Yilmaz, Y., Göksel, Z., Erdoğan, S., Öztürk, A., Atak, A. y Özer, C. (2015). Antioxidant Activity and Phenolic Content of Seed, Skin and Pulp Parts of 22 Grape (*Vitis vinifera L.*) Cultivars (4 Common and 18 Registered or Candidate for Registration). *Journal of Food Processing and preservation*, 39, 1682-1691
134. Ziller, S. (1994). *Grasas y aceites alimentarios*. España: Acribia

135. Heneczkowski, M., Kopacz, M., Nowak, D. y Kuzniar, A.(2011).Infrared spectrum analysis of some flavonoids.Acta Poloniae Pharmaceutica Drug Research,58(6),415-420
136. Kumar, B. y Cumbal, L.(2016). UV-Vis, FTIR and antioxidant study of Persea americana (avocado) leaf and fruit: a comparison. Revista de la Facultad de Ciencias Químicas,14,13-20
137. Segovia, F.,Peiró, S., Gallego,M., Mohd, N. y Almajano, M.(2014) .Avocado sedes: Extraction and optimization and posible uses as antioxidant in Food.Antioxidants,382),439-454
138. Weiss J., Gibis M., Schuh V., Salminen H. (2010).Advances in ingredient and processing systems for meat and meat products. Meat Science,86,196–213. doi: 10.1016/j.meatsci.2010.05.008.
139. Dabas, D., Elias, R.,Lambert, J.y Ziegler, G.(2011). A colored avocado seed extract as a potential natural colorant.Journal of Food Science,76(9), 1335-41.doi: 10.1111/j.1750-3841.2011.02415.x.
140. Agencia ID (19 de enero de 2017). Mexico: Bioplastic obtained from avocado seeds. Fresh Plaza. Recuperado de <http://www.freshplaza.com/article/169610/Mexico-Bioplastic-obtained-from-avocado-seeds>