



**UNIVERSIDAD DE JAÉN**  
CENTRO DE ESTUDIOS DE POSGRADO

**Trabajo de Fin de Máster**

**“Aprovechamiento por extracción de compuestos  
polifenólicos del hueso de aguacate tipo Hass subproducto  
en la agroindustria del guacamole.”**

Autor: Flores Rubio Damián Alexander  
demisoxd@gmail.com

Tutor: Dr. Alberto J. Moya López

Dpto. de Ingeniería Química, Ambiental y de los Materiales.  
ajmoya@ujaen.es

Jaén, noviembre, 2020

## Dedicatoria

Dedico este trabajo a toda persona interesada en el proceso del aprovechamiento de residuos agrícolas especialmente los interesados en la producción e industria de derivados del aguacate de España.

## Agradecimiento

A Dios que es mi fortaleza y mi escudo. Es él que me ciñe de poder, y quien hace perfecto mi camino. (Salmo 18:32)

A mi madre Isolina Rubio Ulloa y mi abuelita Olga Ulloa León por su sacrificio y esfuerzo durante la obtención del máster, aunque no fue fácil la familia es el único apoyo que te hace seguir adelante.

Al Dr. Alberto Moya, gracias por darme la oportunidad de trabajar bajo su dirección y por todos los conocimientos impartidos.

Al Dr. Sebastián Sánchez, por el gran apoyo brindado con el uso de materiales y reactivos que sirvieron en el desarrollo de este estudio.

A Lola de la Casa, personal técnico del laboratorio químico ambiental que me permitió desarrollar mi trabajo de investigación con las mayores facilidades disponibles.

Gracias a todos y todo lo que componen el Máster en Bioquímica y Biomedicina de la Universidad de Jaén – España.

## Contenido

### CAPÍTULO I

1	INTRODUCCIÓN.....	1
1.1	Industrialización del aguacate.....	1
1.1.1	Antecedentes.....	1
1.1.2	Justificación.....	1
1.2	Generalidades del aguacate.....	2
1.2.1	Taxonomía.....	2
1.3	Condiciones ambientales, composición del suelo, ubicación geográfica y condiciones de almacenamiento.....	3
1.4	Aprovechamiento de los residuos de la producción de aguacate Haas en la producción del Guacamole.....	3
1.4.1	Uso y presencia de compuestos fenólicos en la semilla de aguacate.....	4
1.4.2	Cinética de la extracción de compuestos bioactivos.....	6
1.5	Evaluación toxicológica de hueso del aguacate.....	8
1.6	Polifenoles y sus propiedades antioxidantes.....	8
1.6.1	Capacidad antioxidante.....	10
1.7	Hipótesis.....	11
2	OBJETIVOS.....	11
2.1	Objetivo general.....	11
2.2	Objetivos específicos.....	11
3	MATERIALES Y MÉTODOS.....	12
3.1	Materiales.....	12
3.1.1	Hueso de aguacate.....	12
3.1.2	Balanza analítica.....	12
3.1.3	Estufa.....	13
3.1.4	Fotómetro.....	13
3.1.5	Solvente agua, mezcla etanol /agua 50:50, etanol y acetona/agua 50:50.....	13
3.1.6	Test espectrofotométrico de cubetas Fenol.....	13
3.1.7	Software.....	13
3.2	Métodos analíticos.....	13
3.2.1	Método para determinar el porcentaje de humedad.....	14
3.2.2	Molienda.....	14
3.2.3	Extracción de compuestos fenólicos.....	14
3.2.4	Método para la extracción de polifenoles de la muestra de aguacate.....	15
3.2.5	Método para la determinación del contenido fenólico en el hueso de aguacate.....	15

3.2.6	Disoluciones .....	16
3.2.7	Diseño experimental y estadístico .....	16
3.2.8	Método para la determinación de la capacidad antioxidante. ....	16
4	RESULTADOS .....	17
4.1	Resultados del porcentaje de humedad en el hueso de aguacate.....	17
4.2	Resultados de polifenoles totales en el hueso del aguacate.....	18
4.2.1	Concentración de polifenoles con disolvente agua. ....	18
4.2.2	Concentración de polifenoles con disolvente etanol / agua. ....	19
4.2.3	Concentración de polifenoles con disolvente etanol.....	21
4.2.4	Concentración de polifenoles con disolvente acetona -agua. ....	22
4.3	Resultados esperados de la capacidad antioxidante. ....	23
5	DISCUSIÓN.....	24
6	CONCLUSIONES.....	28
7	BIBLIOGRAFÍA .....	30
8	ANEXOS.....	34
8.1	Anexo 1. Curriculum vitae.....	34
8.2	Anexo 2. Imagen de la muestra de hueso de aguacate tipo Hass de CHIRIMVITA agorindustria.....	39
8.3	Anexo N°2 Imagen de la preparación de la muestra para la detección del contenido fenólico.....	39
8.4	Anexo N°3. Imagen de la determinación del compuesto fenólico en el kit Test en cubetas fenol.....	39
8.5	Anexo N°4 Ficha técnica del kit test de cubetas fenol.....	40

#### Contenido de tablas

Tabla 1.4-1. Métodos de extracción del hueso de aguacate persa americana variedad hass .	7
Tabla 3.2-1 Modelo experimental empleado. ....	15
Tabla 4.1-1 Porcentaje de humedad del hueso de aguacate.....	17
Tabla 4.2-1 Concentración de polifenoles por gramos de hueso en disolvente agua .....	18
Tabla 4.2-2 Modelo de extracción del contenido fenólico-disolvente agua.....	19
Tabla 4.2-3 Concentración de polifenoles por gramos de hueso en etanol-agua. ....	20
Tabla 4.2-4 Modelo de extracción del contenido fenólico-disolvente etanol-agua.....	20
Tabla 4.2-5 Concentración de polifenoles por gramos de hueso en etanol. ....	21
Tabla 4.2-6 Concentración de polifenoles por gramos de hueso en acetona-agua. ....	22
Tabla 4.2-7 Modelo de extracción del contenido fenólico-disolvente acetona-agua.....	22

## Contenido de graficos

Figura 1.2-1 Componentes que constituyen un aguacate. Fuente Bernal 2008.....	2
Figura 1.4-1 Listado de algunas propiedades de los subproductos del aguacate. Fuente aguacavalue.com 2020 .....	6
Figura 1.6-1 Principales estructuras de flavonoides presentes en el hueso del aguacate en la que destacamos las estructuras de catequinas y epicateuquinas (Tomado de Rimbach 2009). .....	9
Figura 1.6-2 Algunos ácidos hidroxibenzóicos formado por un anillo aromático fenólico simple con el grupo carboxílico e hidroxilo (Tomado de Peñarrieta 2014). .....	10
Figura 1.6-3 Representación de los principales compuestos ácidos cinámicos como ejemplo el ácido cafeico (Tomado de Magnani 2014).....	10
Figura 3.2-1 Reacción del radical estable DPPH con un compuesto antioxidante tomado de Oliveira 2014.....	17
Figura 4.2-1 Superficie de respuesta, cantidad de polifenoles totales (mg fenol/g muestra) versus temperatura (°C) y tiempo (min) de exposición. Fuente este estudio. ....	19
Figura 4.2-2 Superficie de respuesta, cantidad de polifenoles totales (mg fenol/g muestra) versus temperatura (°C) y tiempo (min) de exposición. Fuente este estudio. ....	21
Figura 4.2-3 Superficie de respuesta, cantidad de polifenoles totales (mg fenol/g muestra) versus temperatura (°C) y tiempo (min) de exposición. Fuente este estudio. ....	23
Figura 4.3-1 Capacidad antioxidante total de los extractos de la semilla de aguacate medidos en equilibrio tomado de Segovia 2013. ....	24

## **RESUMEN**

### **TÍTULO:**

**“Aprovechamiento por extracción de compuestos polifenólicos del hueso de aguacate tipo Hass subproducto en la agroindustria del guacamole.”**

### **AUTOR:**

Flores Rubio Damián Alexander

### **TUTOR:**

Dr. Alberto J. Moya

### **Resumen**

Crece el consumo de aguacate y sus derivados alrededor del mundo y en España para el año 2018 fue de 91000 toneladas siendo Málaga y Granada los que destacan en la producción nacional con el 88%. Esta agroindustria genera un 30% de subproductos de desecho aproximadamente 200 toneladas de hueso y piel las cuales se convierten en un problema ecológico. Este subproducto es una fuente importante de compuestos fenólicos de gran interés por su capacidad antioxidante. El objetivo del trabajo está enfocado en el aprovechamiento mediante extracción de compuestos fenólicos del hueso de aguacate tipo Hass subproducto de la agroindustria del guacamole. Se ha utilizado un método alterando las variables temperatura y tiempo de exposición, además de diferentes tipos de solventes con un diseño full factorial de tres niveles con dos repeticiones del punto central con el cual han obtenido modelos de ecuación que han permitido determinar las mejores condiciones de extracción de estos compuestos fenólicos. Los resultados fueron empleando como disolvente agua y etanol –agua al 50% el menor tiempo de exposición, cero minutos y la temperatura más alta ensayada, 150°C determinándose concentraciones de 1,95 miligramos de fenol por gramo de muestra (mg/g) y 4,32 mg/g respectivamente. Se utilizó una mezcla acetona – agua 50% los mejores resultados se obtuvieron a mayor tiempo de exposición con una menor temperatura determinándose una concentración máxima de 4,54 mg/ g a 40 °C y 120 minutos. Finalmente se concluye que las condiciones de extracción si influyen en la concentración de polifenoles.

Palabras claves: Aprovechamiento del Hueso de aguacate. Extracción solida – líquido. Contenido de polifenoles. Capacidad antioxidante.

**TITLE:**

**"Harnessing by extraction of polyphenolic compounds from the Hass-type avocado seed as by-product in the guacamole agribusiness."**

**AUTHOR:**

Flores Rubio Damián Alexander

**TUTOR:**

Dr. Alberto J. Moya

**Abstract**

The consumption of avocado and its derivatives is growing around the world and in Spain for the year 2018 it was 91,000 tons, Malaga and Granada being the ones that stand out in the national production with 88%. This agribusiness generates 30% of waste by-products, approximately 200 tons of bone and skin, which become an ecological problem. This by-product is an important source of phenolic compounds of great interest for its antioxidant capacity. The objective of the work is focused on the use by extraction of phenolic compounds from the Hass-type avocado pit, a by-product of the guacamole agribusiness. A method has been used altering the variables temperature and exposure time, as well as different types of solvents with a three-level full factorial design with two repetitions of the central point with which they have obtained equation models that have allowed determining the best conditions for extraction of these phenolic compounds. The results were using water and ethanol as solvent - 50% water, the shortest exposure time, zero minutes and the highest temperature tested, 150 ° C, determining concentrations of 1.95 milligrams of phenol per gram of sample (mg / g) and 4.32 mg / g respectively. A 50% acetone-water mixture was used, the best results were obtained at a longer exposure time with a lower temperature, determining a maximum concentration of 4.54 mg / g at 40 ° C and 120 minutes. Finally, it is concluded that the extraction conditions do alter the concentration of polyphenols.

Key words: Use of the avocado seed. Solid extraction- liquid. Polyphenol content. Antioxidant capacity.

# 1 INTRODUCCIÓN

## 1.1 Industrialización del aguacate

### 1.1.1 Antecedentes

A nivel mundial se ha incrementado el consumo de aguacate con un crecimiento en países como Estados Unidos, Francia, Alemania, España entre otros. Produciendo un desarrollo de las zonas plantares en países como México, Chile, Ecuador, Perú, Colombia, Sudáfrica, Nueva Zelanda, España, Australia, entre otros. Presentando un consumo anual de 74 millones de aguacates con un incremento del 35% con respecto al año 2018 en España y un incremento a nivel europeo que supera los 650 millones de kilos dejando de lado la cifra de 140 millones del año 2017, según la Organización mundial de Aguacates (WAO). De manera regional a partir del año 2005 en Málaga muchas empresas como Avomix, Frumaco y Frutas Montosa con una visión a futuro empezaron a procesar el aguacate e iniciaron con la producción de una salsa denominada guacamole convirtiéndose en la actualidad en la productora nacional principal con unas 3000 toneladas facturando alrededor de 8 millones de euros (Peláez A. 2017).

A nivel nacional para el 2018 según la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. (FAO) tiene una producción de 91000 toneladas de aguacate siendo Málaga y Granada las provincias destacadas con el 88% de la producción nacional. El modo de vida español genera el incremento de comercialización de consumo de alimentos preparados, y en el caso del aguacate existe una gran cantidad de subproductos comerciales alrededor del 30 % del peso de este fruto. Generando aproximadamente 2000 toneladas de hueso y de piel de aguacate convirtiéndose un desecho, que pasa a ser un gran problema ecológico para la industria. Con el afán de minimizar esta problemática varios estudios se han enfocado en la utilización de estos subproductos ya que son una fuente importante de compuestos bioactivos como son clorofilas, carotenoides y compuestos fenólicos. (Wang 2010).

### 1.1.2 Justificación

El presente trabajo está enfocado en el aprovechamiento de la semilla mediante la extracción de compuestos polifenólicos del hueso de aguacate tipo Hass como subproducto en la agroindustria procesadora de guacamole con residuos entregados por parte de CHIRIMVITA Agroindustrias Tropicales S.L. ubicado en Granada. De

esta manera se brinda una alternativa a la industria que aumenta la sostenibilidad medioambiental y la revalorización de los subproductos de aguacate con la utilización de componentes polifenólicos en diferentes ámbitos neutracéuticos, farmacéuticos, cosméticos, de alimentos e industria.

## 1.2 Generalidades del aguacate

El aguacate es una baya constituido por una cubierta rugosa de color verdoso, un mesocarpio carnoso de color verde claro, un endocarpio y una semilla de color café. Su peso oscila entre 150 a 400 gramos de forma ovoide. Su nombre científico *Persea americana* Miller variedad Hass, de origen de los hemisferios trópicos occidentales en estado de madurez se torna de color pardo y es consumible (Bernal 2008).

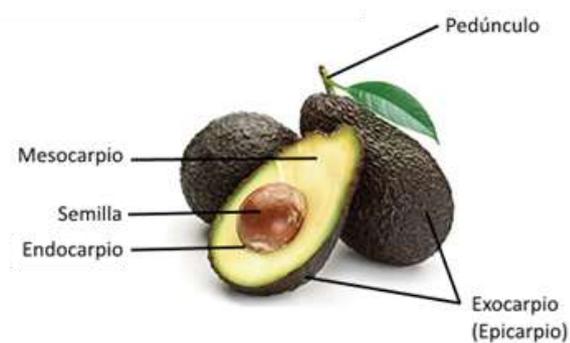


Figura 1.2-1 Componentes que constituyen un aguacate. Fuente Bernal 2008.

Formado por una cubierta denominada exocarpio o piel (13 % del peso total del fruto), la porción comestible denominada mesocarpio o pulpa (72 %), una fina capa interna que rodea la semilla correspondiente al endocarpio o cubierta del hueso (0.3 %), y la semilla o hueso (14.7 %) (Chen 2008). El principal consumo del aguacate corresponde a la pulpa rico en vitaminas como A, C, K1, B-6 ácido pantoténico, riboflavina, luteína, ácidos grasos insaturados, derivados del ácido abscísico, glutatión, y fenoles (Barbosa 2016). Con grandes beneficios para la memoria, para el sistema cardiovascular además en un neurotransmisor, entre otros beneficios tanto en la industria cosmética y alimentaria (Padmanabhan and Arumugam, 2014).

### 1.2.1 Taxonomía

*Persea americana* Miller variedad  
Hass (Barreto 2014).

Reino: Vegetal

División: Spermatophyta

Subdivisión: Angiospermae

Clase: Dicotyledonea

Subclase: Dipétala

Orden: Ranales

Familia: Lauraceae

Especie: Persea americana Miller

Género: Persea

Variedad: Hass

### **1.3 Condiciones ambientales, composición del suelo, ubicación geográfica y condiciones de almacenamiento.**

Los frutos se recolectan en la comarca de la Costa Granadina en la provincia de Granada, comunidad autónoma de Andalucía en la ciudad de Motril se encuentra a 45 msnm, posee un microclima subtropical con una temperatura media de 17-18°C, en verano alrededor de los 25 °C y en invierno alrededor de los 12 °C. El suelo está compuesto un 40% por limos, arenas, arcillas y un 60 % cuarcitas y filitas, adecuados para el desarrollo de productos hortícolas, herbáceos y frutales (Datos obtenidos por el ayuntamiento de motril. es).

La recolección de los frutos no presenta ningún tipo de clasificación se almacenan en un cuarto no refrigerado a temperatura ambiente hasta la maduración luego es lavado, pelado y triturado para la elaboración de guacamole. La semilla se desecha.

### **1.4 Aprovechamiento de los residuos de la producción de aguacate Haas en la producción del Guacamole**

A través de los años la producción de guacamole conquista la industria subtropical con procesos innovadores y elaborando productos de enorme calidad que se han ganado la confianza de grandes cadenas de distribución nacional como Mercadona y Lidl e internacional a nivel europeo con filiales francesas del grupo Reyes en la que destaca la producción de la salsa de aguacate (guacamole). Empresas como Frutas montosa, Avomix y Frumaco, revelan algunos datos de su producción como ejemplo Frutas montosa produjo 2.761 toneladas de guacamole facturando aproximadamente 65 millones de euros para el 2016.

De igual manera el procesado del guacamole genera subproductos como la piel o cascara y el hueso generando toneladas consideradas desechos aproximadamente el 30% de los aguacates procesados. Es ahí donde varios estudios conjuntamente con estas empresas han formado grupos que investiga el aprovechamiento de los subproductos del procesado del guacamole. Contribuyendo con la presente problemática este estudio pretende aprovechar las condiciones cinéticas en la obtención de los polifenoles del hueso del aguacate con la intención de un posterior uso como antioxidantes.

El hueso o la semilla del aguacate presenta alto contenido de potasio y antioxidantes debido a su alta composición de compuestos fenólicos, además de ser una fuente importante de fibra se ha encontrado aditivos alimentarios como agentes espesantes, colorantes, aromatizantes inclusive antimicrobianos (Barbosa 2016; Vivero 2019).

Entre las técnicas que permiten la extracción de polifenoles con propiedades antioxidantes tenemos el uso de temperatura, tiempo de exposición, solventes utilizados pretratamientos de muestras entre mencionar algunos, que dependiendo de la intensidad con la que se aplique dependerá su extracción y la efectividad del antioxidante de los extractos de la semilla (Segovia 2016; Vivero 2019).

Se han realizado varios estudios fitoquímicos sobre la semilla de aguacate y se ha identificado diferentes metabolitos como glucósidos del ácido abscídico, fotosteroles, triptenos, ácidos grasos con enlaces oleofínicos, acetilénicos, ácidos furanoicos, dímeros de flavanoles, proantocianidinas oligoméricas, polifenoles y antocianinas (Wang 2010).

#### **1.4.1 Uso y presencia de compuestos fenólicos en la semilla de aguacate**

El hueso del aguacate representa un 15% del peso en la variedad Hass, con un rico perfil de metabolitos secundarios con efecto farmacológicos (Dominguez 2014). Se enfatiza su uso como antioxidante, antimicrobiano, antihipertensivo, antidiabético, anticancerígeno, hipocolesterolémico, dermatoprotector, biocombustible, bioadsorbente utilizado en tratamiento en micosis, reumatismos, asma, procesos infecciosos y anestésico (Jimenez- Arellanes 2013). A pesar de presentar grandes beneficios sigue siendo considerado un producto de desecho que podría usarse en diferentes procesos biológicos.

Como antioxidante, de algunos productos en la industria alimenticia siendo la oxidación de varios productos una gran problemática que se podría eludir o retrasarse con la aplicación de aditivos antioxidantes sintéticos o naturales. Múltiples estudios confirman la capacidad oxidante de compuestos fenólicos con una alta capacidad antioxidante en el hueso del aguacate como el ácido cafeico, ácido ferúlico, ácido 3-O-p-cumaroilquínico e isómeros del ácido clorogénico. De igual manera la presencia de derivados de alcoholes fenólicos el hidroxitirosol glucósido, tirosol glucósido y tetrámeros de catequinas (Calderón-Oliver 2017).

Como antibiótico, algunos estudios en los extractos del hueso del aguacate presentaron actividad antimicrobiana con procesos de maceración que dependiendo del

solvente (agua, metanol y etanol) y variando la temperatura de la extracción se encontró actividad antimicrobiana contra *P. aeruginosa*, *St. Aureus*, *E. coli*, presentando actividad similar a la ofloxacina. (Nwaoguikpe 2011). De igual manera contra *Clostridium*, *Bacillus*, *Alicyclobacillus* y *Listeria*. (Hernandez 2012).

Como adsorbente, donde varios estudios han analizado a la semilla del aguacate como materia prima en la producción de carbones activados granulares, que dependiendo de la demanda química y biológica es un excelente material para la purificación de aguas residuales y gases. Se ha obtenido buenos resultados en la eliminación de contaminantes por adsorción lo que ha representado una tecnología prometedora debido a su bajo costo, producción directa y con una gran ventaja medioambiental que supone reutilizar el subproducto (Olatunji 2017).

Como antidiabético, gracias a varios estudios que han demostrado que los extractos de la semilla o hueso del aguacate han reducido los niveles de glucosa en sangre, en ratas a las que se la inducido un cuadro diabético como un indicio y un uso potencial en esta patología que afecta a gran parte de la población actual (Sutrisna 2015).

Como anticancerígeno, se conoce que el actual tratamiento en un paciente con cáncer tiene muchos efectos secundarios incómodos y con un alto costo para el paciente. Por este motivo se fomenta el estudio alternativo de fotoquímicos naturales como una alternativa para combatir esta patología. Recientes estudios utilizando extractos etanólicos del hueso de aguacate han presentan potencial anticancerígeno como el realizado por Abubakar , et al. (2017), en el cual los compuestos finalmente obtenidos se evaluaron sobre diferentes líneas celulares en cáncer de mama humano MCF-7 (ATTC HTB-22) e hígado humano HepG2 (ATCC HB-8065). Los resultados revelaron la existencia de propiedades anticancerígenas frente a estas líneas celulares que tienen los triterpenoides del hueso de aguacate (Abubakar,2017).

Como insecticida, ya que los extractos obtenidos mediante maceraciones con etanol y hexano han mostrado ser un larvicida en contra del *Aedes aegypti* (Torres 2014). De igual manera se ha encontrado un extracto con n-hexano que se relaciona con el contenido de ácido oleico, estos extractos en la actualidad son de gran interés por su origen natural posicionando al hueso o semillas de aguacate como agente alternativo en el control de enfermedades víricas como el dengue (Agrela 2014).



Figura 1.4-1 Listado de algunas propiedades de los subproductos del aguacate. Fuente aguacavalue.com 2020

Una vez descrito algunos de los usos actuales más representativos de los residuos de la producción y comercialización de derivados del aguacate como es la semilla o hueso. Describiremos algunas formas de extracción, los compuestos presentes en dichos extractos y el potencial uso de los extractos. de mayor interés en los cuales se ha realizado algunos estudios actuales.

#### 1.4.2 Cinética de la extracción de compuestos bioactivos

La variación de la temperatura y la extracción con solventes orgánicos se utiliza para la extracción de compuestos fenólicos de diferentes elementos vegetales, frutales y residuos como lo es el hueso de aguacate, siendo los más usados, metanol, etanol acetona y hexano para las fracciones lipídicas de los polifenoles (Segovia 2016).

El comportamiento del proceso de extracción del sistema versus la temperatura, la concentración del solvente y el tiempo de exposición permiten tener coeficientes que permiten elaborar un modelo que optimiza el proceso de extracción ya que ofrece un panorama de variables que afectan el proceso (Spigno 2007).

Tabla 1.4-1. Métodos de extracción del hueso de aguacate *Persa americana* variedad Hass

Residuo	Uso potencial	Método de extracción	Compuestos obtenidos
Hueso /semilla (Rodríguez et al 2013)	Antimicrobiano ( <i>Clostridium sporogenes</i> )	Maceración con acetona (1:2 w/v), 24 h, 25°C	Acetogeninas(trans-enona)
Hueso (Pahua et al 2012)	Antimicrobiano (Staphylococcus aureus) Oxidación lipídica y de proteínas en carne de cerdo.	Maceración empleando acetato de etilo, acetona/agua (70:30 v/v), Metanol/agua (70:30 v/v) a razón de 1 g/3 mL.	N.A.
Hueso ( Assolu et al 2010)	Hipolipidémica	Extracción soxhlet, MeOH  Maceración , agua	Ácido protocacacuico, Ácido clorogénico, Ácido siríngico, Ácido vanílico, Rutina Kaempferol, kaempferide  Taninos, saponinas, flavonoides, alcaloides
Hueso (Rodríguez et al 2011)	Oxidación lipídica y de proteínas en carne de cerdo	Maceración empleando acetona/agua (70:30 v/v), a razón de 1 g/3 mL	N.A.
Hueso (kosinska 2012)	TEAC, ORAC, FRAP	Maceración Metanol 80%. Relación 1:8 (w/v), 60°C, 15 min.	Monómeros de flavonoles proantocianidinas, ácidos hidroxicinámicos glicósidos de flavonoles
Hueso (Irma et al 2014)	Larvicida – Aedes aegypti	Maceración etanol a razón de 1 g /5 ml por 4 días	Triterpenos y sesquiterpenlactonas.
Hueso (Sánchez F. 2017)	Carbono activado	Semillas molidas se secaron y calentaron de 10 a 900°C y en una atmosfera de nitrógeno 200 ml / min.	N.A
Hueso (Abubakar 2017)	Actividad anticancerígena mama e hígado	Maceración con etanol a temperatura ambiente	Tripertenoides

*Nota:* Estudios realizados sobre residuos de aguacate Hass, adjunto al potencial uso de los extractos, el método de extracción utilizado y el compuesto presente en el extracto. tomado de Wilson Barrero 2014

## **1.5 Evaluación toxicológica de hueso del aguacate**

Como se menciona existen varios usos potenciales en los residuos de la manufactura de los distintos derivados del aguacate y la aplicabilidad que tiene los componentes del hueso o semilla del aguacate. Algunas aplicaciones tienen contacto directo con seres vivos, por ende, un factor a evaluar es la toxicidad y genotoxicidad, la cual verifica la seguridad de la aplicabilidad de las sustancias obtenidas a partir del residuo hueso de aguacate, antes de incorporarlo en el ámbito alimentario, farmacéutico cosmético e industrial (Padilla 2013). Varios estudios que disponen información sobre su dosis letal media (LD<sub>50</sub>) dependiente del disolvente usado. Ensayos de Padilla-Camberos et al 2013, menciona la toxicidad aguda del extracto de la semilla del aguacate Hazz (*P. americana*) tuvo un LD<sub>50</sub> de 1200.75 mg/ Kg y una genotoxicidad de 250 mg/kg (Padilla 2013).

## **1.6 Polifenoles y sus propiedades antioxidantes**

Los polifenoles son sustancias químicas no energéticas de estructura similar caracterizada por tener uno o más anillos aromáticos con un grupo hidroxilo enlazado, de origen vegetal que forma parte de varios plantas y frutos. El contenido de estos compuestos fenólicos varía según genotipo, madurez, condiciones ambientales, composición del suelo, ubicación geográfica y condiciones de almacenamiento (Quiñones 2012).

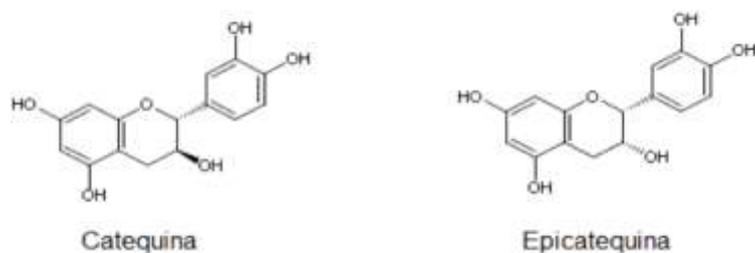
En la presente revisión se destaca diversas funciones que intervienen en la señalización en distintos procesos celulares por ejemplo al intervenir en la modulación de diferentes enzimas debido a sus características fisicoquímicas que les permiten ser partícipes en distintas reacciones metabólicas celulares de óxido- reducción, además pueden actuar en distintas vías de señalización intracelulares como mediadores, lo que los convierte en moléculas muy interesantes para el desarrollo de nuevos productos (Valencia 2017). Actualmente estas características han hecho que grandes industrias e investigadores muestren interés por estas sustancias, por la aplicación en la industria alimentaria, en la farmacia y por su acción biológica.

La clasificación general de estos compuestos fenólicos son flavonoides los cuales están formados por flavonoles, flavonas, flavan3-ols, isoflavonas, flavanonas, dihidroflavonoles, antocianidinas y chalconas. Los no flavonoides que están formados por ácidos hidroxibenzoicos, ácidos hidroxicinámicos, polifenoles volátiles, estilbenos y compuestos diversos como lignanos y cumarinas (Zhang,2015). Otro criterio es la

solubilidad en agua como, ácidos fenólicos, fenilpropanoides, flavonoides y quinonas. Los insolubles en agua serían los taninos condensados, ligninas y ácidos hidroxicinámicos (Valencia 2017).

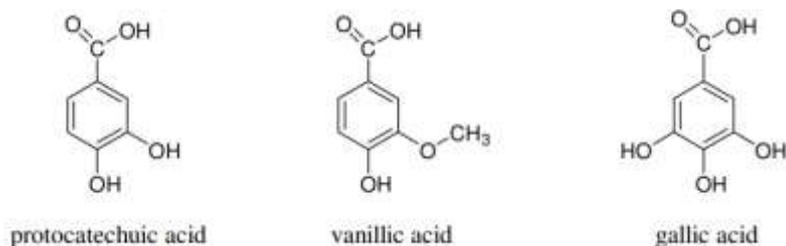
Varios estudios como el de Wang et al y Rosero señalan que los compuestos fenólicos que se identificaron mayormente en la semilla del aguacate tipo Hass fueron procianidinas, catequinas, epicatequina además de compuestos fenólicos como, ácidos hidroxibenzoicos, ácidos hidroxicinámicos y flavonoles (Rosero 2017). Adicionalmente en su composición se destaca ácido cafeico, ácido ferúlico, ácido 3-O- p cumaroilquínico e isómeros del ácido clorogénico.

Procianidinas del grupo flavonoides, están compuestas por unidades de catequinas y epicatequina figura 1.6-1 que se caracterizan por formar combinaciones estables con proteínas y otros polisacáridos afectando a las enzimas pudiendo inhibir su actividad además de interactuar con factores de transcripción, receptores nucleares y con factores de transducción de señales que modifican el metabolismo celular de diversos tejidos con beneficios para la salud. Por ejemplo, se ha descrito efectos antidiabéticos con una actividad hipoglucemiante con la inducción de la producción de insulina pancreática y la síntesis hepática de glucógeno para la epicatequina; también se ha descrito la síntesis de glucógeno y la inhibición del gluconeogénesis para la catequina (Fernández 2007).



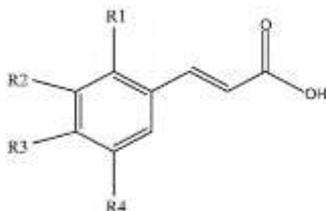
*Figura 1.6-1* Principales estructuras de flavonoides presentes en el hueso del aguacate en la que destacamos las estructuras de catequinas y epicatequinas (Tomado de Rimbach 2009).

Ácido hidroxibenzóico presentan un grupo carboxílico e hidroxilos en un anillo aromático como se ilustra en la figura 1.6-2, presente en varios alimentos es de interés biológico por su efecto protector, su gran capacidad antioxidante, antígenotóxicos y antiproliferativa en células (Peñarrieta 2014).



*Figura 1.6-2* Algunos ácidos hidroxibenzoicos formado por un anillo aromático fenólico simple con el grupo carboxílico e hidroxilo (Tomado de Peñarrieta 2014).

El ácido cafeico (3,4-dihydroxicinámico) figura 1.6-3 es un metabolito de hidroxicinamato y fenilpropanoide, que contiene grupos funcionales fenólicos distribuido mayoritariamente en tejido de plantas, alimentos, en bebidas como el café y sidra y en varios medicamentos de uso general. Presenta características como inhibidor cancerígeno, posee actividad antioxidante, antibacterial y contribuye a la prevención de arteroesclerosis y otras patologías cardiovasculares (Magnani 2014).



*Figura 1.6-3* Representación de los principales compuestos ácidos cinámicos como ejemplo el ácido cafeico (Tomado de Magnani 2014).

### 1.6.1 Capacidad antioxidante

A nivel de la cadena respiratoria mitocondrial el humano genera radicales libres que atacan a ciertos componentes de membrana y material genético provocando un daño celular. Por ejemplo, el peróxido de hidrógeno con el ion ferroso por acción de la ciclooxigenasa. Como defensa nuestro organismo presenta sistemas antioxidantes de naturaleza enzimática como la catalasa, superóxido dismutasa y glutatión peroxidasa. Así como no enzimáticas el ascorbato, ferritina, ceruloplasmina, polifenoles antocianinas, por mencionar algunas (Poma 2015). Los medios de defensa antioxidantes en momentos son insuficientes para proteger al organismo del efecto dañino de radicales libres que conducen al estrés oxidativo que se relaciona con diversas patologías como cáncer, diabetes, cataratas, hipertensión arterial entre otras.

## **1.7 Hipótesis**

Numerosos estudios han estado encaminados al aprovechamiento de los compuestos fenólicos del fruto como tal del aguacate Hass (*Persea americana*) y sus productos industrializados cuyo consumo se ha incrementado al valor agregado de su sabor textura y beneficios para la salud a nivel español como a nivel mundial.

Con evidencias y estudios actuales de la separación, aislamiento y caracterización de los compuestos fenólicos en residuos del aguacate se amplía la posibilidad del aprovechamiento de los subproductos en la industrialización alimentaria de este fruto, como es la semilla o hueso con el contenido de compuestos fenólicos que serán de utilidad como componentes en la industria alimentaria, cosmética y farmacéutica.

El presente trabajo evalúa parámetros que pueden variar la concentración en la extracción de polifenoles. Siguiendo las siguientes hipótesis:

Hi: Los parámetros (tiempo, temperatura de exposición y concentración del solvente orgánico) si influyen en el proceso de extracción de polifenoles del hueso de aguacate tipo Hass como subproducto en la industria de la elaboración de guacamole.

Ho: Los parámetros no influyen sobre la extracción de polifenoles del hueso de aguacate tipo Hass como subproducto en la industria de la elaboración de guacamole.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo general**

El consumo del aguacate de manera industrial, principalmente de su pulpa y aceite, deja un considerable subproducto agrícola que se considera como residuo la cáscara y con mayor tamaño y peso el hueso o semilla del aguacate. Estudios previos han demostrado una extracción con solventes orgánicos de forma convencional con un alto contenido de compuestos polifenólicos que pueden ser de gran utilidad en la industria. Por lo cual el presente trabajo tiene como objetivo aprovechar el hueso de aguacate tipo Hass subproducto de la industrialización de guacamole como fuente de compuestos polifenólicos.

### **2.2 Objetivos específicos**

Para el alcance exitoso de nuestra meta principal se ha fijado algunos objetivos específicos que se describen a continuación:

Con una cantidad suficiente de muestra es importante determinar parámetros físicos como color, tamaño, peso y humedad del hueso del aguacate tipo Hass que nos permitan una interrelación entre las características propias del hueso con su contenido fenólico.

Uno de los retos en el aprovechamiento del hueso del aguacate es la pérdida potencial funcional de los subproductos agrícolas por su alto contenido de agua. Con este sentido nuestro siguiente objetivo específico es optimizar el proceso de deshidratación del hueso del aguacate conservando su riqueza fenólica.

En la extracción del contenido fenólico de material vegetal influye mucho las condiciones de temperatura, tiempo de exposición y solvente utilizado para lo cual debemos evaluar condiciones diferentes de temperaturas y tiempos de exposición sobre la concentración de contenido fenólico total.

Continuando con la evaluación del componente fenólico del hueso de aguacate se extrae el contenido de la semilla con solventes orgánicos y se procede a determinar el contenido fenólico de cada muestra mediante un test espectrofotómetro en cubetas fenol que permite un análisis total de su contenido polifenólico.

### **3 MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1 Materiales**

##### **3.1.1 Hueso de aguacate**

Se obtiene el hueso de aguacate variedad Hass el cual parte como residuo de la industria alimenticia en la producción de guacamole o salsa de aguacate por parte de la fábrica CHIRIMVITA Agroindustrias Tropicales S.L. Las semillas se limpian, luego se lavan y se deja secar a una temperatura de 100 °C por 24 horas. Posteriormente se muelen y cada residuo se tamiza se procede a la selección del tamaño del tamizado de 1.6 a 1.2 mm. Finalmente las muestras se almacenan en bolsas a temperatura ambiente hasta su uso.

##### **3.1.2 Balanza analítica**

RADWAG modelo PS 1000 C/2 con un máximo de 1000 gramos y un mínimo de 20 miligramos con una linealidad de  $\pm 3$ mg. Instrumento que se utiliza en la medición de masa para la determinación del porcentaje de humedad. Además, de distintas mediones de masa de muestra en la determinación del total del contenido polifenólico por gramo de hueso de aguacate.

### **3.1.3 Estufa**

Memmert modelo 100-800, se lo utiliza en el secado del hueso de aguacate factor importante de la determinación del porcentaje de humedad. Instrumento por el cual se varia la temperatura de secado de la muestra tamizada para observar la existencia de variaciones en la concentración de contenido fenólico en hueso de aguacate.

### **3.1.4 Fotómetro**

Fotómetro Merck modelo Spectroquant NOVA 60 con una precisión de longitud de onda de  $\pm 2$  nm equipo que sirve en el análisis rutinario de muestras líquidas en cubetas listas para usar en nuestro estudio se aplica en la determinación del contenido fenólico.

### **3.1.5 Solvente agua, mezcla etanol /agua 50:50, etanol y acetona/agua 50:50**

Se utiliza agua, una mezcla etanol / agua 50:50, solo etanol y acetona/ agua 50:50 como solvente en las extracciones del contenido fenólico del hueso de aguacate.

### **3.1.6 Test espectrofotométrico de cubetas Fenol**

Test fotométrico Merck Spectroquant modelo 1.14551.0001 se utiliza en la determinación del contenido fenólico de las muestras obtenidas del hueso del aguacate con un intervalo de 0,10 – 2,50 miligramos de fenol por litro de muestra.

### **3.1.7 Software**

Se emplea hojas de cálculo de Excel, en la determinación de humedad y el contenido fenólico total. Además, el programa MODDE versión 6 de UNIMETRICS para el cálculo del modelo de extracción.

## **3.2 Métodos analíticos**

La muestra (hueso) se la obtiene del fruto como residuo de la industria del guacamole salsa y aceite del aguacate. Para el estudio conseguimos diez kilos de hueso de aguacate por parte de la industria CHIRIMVITA Agroindustrias Tropicales S.L. Almuñecar-Granada. Previo a la etapa de cuantificación del contenido fenólico la muestra se somete a una etapa de pretratamiento para que se encuentre en las condiciones más homogéneas y optimas al momento de la extracción del bioactivo. Este pre-abordaje consiste en la deshidratación y la reducción de tamaño.

El proceso de deshidratación se realiza con el fin de evitar posibles contaminaciones de la muestra y alargar su vida útil en la obtención de compuestos fenólicos. El secado es mediante una estufa, aunque bibliográficamente se encontró que las condiciones óptimas para el hueso y el cuidado de su contenido fenólico es alrededor

de 65°C como lo indica Saavedra, et al 2017, no se indica el tiempo. Se asegura el proceso de secado se deja enfriar a temperatura ambiente y se procede con los siguientes pasos para el cálculo de humedad y la concentración de compuestos polifenólicos.

### **3.2.1 Método para determinar el porcentaje de humedad**

Se tomó aproximadamente 6 kilos de hueso de aguacate se procedió a secar a temperatura ambiente durante 24 horas. Luego se separa la cáscara del hueso y se clasifica por tamaño y peso similar, midiendo la circunferencia de la semilla en cinco diferentes bandejas. Luego se secó a 100 °C durante 24 horas. Al siguiente día a temperatura ambiente, se midió su masa. Los resultados obtenidos por bandeja determinaron el porcentaje de humedad.

### **3.2.2 Molienda**

Continuando con la optimización de la muestra se procedió a la adecuación de tamaño de la muestra ya que se considera una variable que afecta el proceso de extracción. Con el antecedente que a un menor tamaño de muestra aumenta la eficacia en el proceso de extracción ya que facilita el incremento del área de contacto con el disolvente varios estudios como los de Bouras et al. 2015 han determinado que tamaños aproximados a los 0,5 mm lograron mejores rendimientos. En nuestro estudio el hueso seco fue molido se tamizó y se trabajó con un tamaño entre los 1,6 y 1,2 mm.

### **3.2.3 Extracción de compuestos fenólicos**

La etapa de extracción de los compuestos fenólicos con un amplio espectro estructural de los subproductos del aguacate, presenta una polaridad amplia que es un factor a tomar en cuenta al momento de la extracción. Por esta razón el presente trabajo trata un proceso de optimización en los diferentes parámetros que afectan la extracción de los analitos. Por lo cual mediante búsqueda bibliográfica varios estudios demuestran que una extracción convencional sólido – líquido con etanol obtiene resultados con un buen rendimiento luego al filtrado se realiza un test de compuestos fenólicos que reaccionan con un derivado tiazólico dando un azocolorante violeta y finalizamos la cuantificación con una determinación fotométrica.

### 3.2.4 Método para la extracción de polifenoles de la muestra de aguacate

Con la muestra seca o tostada se procede a moler y a tamizar. Luego se seleccionó un tamaño de tamiz entre 1,6 y 1,2 mm que son expuestos a diferentes tiempos y temperaturas. Se tomó once experimentos cada uno con 25 gramos de la muestra tamizada y se calentó a temperaturas de 40 °C, 95°C y 150 °C. El tiempo de exposición fue a 0, 60 y 120 min. Como se explica mejor en la siguiente tabla 3.2-1

Tabla 3.2-1 *Modelo experimental empleado.*

EXPERIMENTO	TIEMPO (MINUTOS)	TEMPERATURA (°C)
1	0	40
2	60	40
3	120	40
4	0	95
5	60	95
6	120	95
7	0	150
8	60	150
9	120	150
10	60	95
11	60	95

Para la estimación del modelo de extracción y el diseño que se utiliza en el estudio se realiza una codificación de las variables siendo, tiempo (t) y temperatura (T) las siguientes:

$$t = 0 \text{ minutos} = -1$$

$$t = 60 \text{ minutos} = 0$$

$$t = 120 \text{ minutos} = +1$$

$$T = 40 \text{ °C} = -1$$

$$T = 95 \text{ °C} = 0$$

$$T = 150 \text{ °C} = +1$$

### 3.2.5 Método para la determinación del contenido fenólico en el hueso de aguacate.

La extracción se realizó con los diferentes experimentos del 1 al 11 mencionados en el apartado anterior, se pesó un gramo de muestra en un tubo con tapa se añade 2 ml del solvente, agua en una primera experimentación, una segunda con una mezcla etanol-agua 50:50, una tercera parte solamente con etanol y finalmente acetona –agua 50:50. Cada maceración se la realiza con una hora de agitación a 500 rpm. Luego se filtra en papel a temperatura ambiente, este paso es por duplicado para cada parte de la experimentación. Con el sólido resultante se seca por 24 horas, luego de este tiempo se

pesa y se guarda. El filtrado se guarda a 4°C hasta que se lo utilice en la determinación del contenido fenólico. La técnica consiste en la preparación de una dilución de la muestra 1:500 a excepción de la obtenida con etanol que fue de 1:50. Se llevó a 10 ml en un tubo propio del test en cubetas fenol. Luego se añadió una microcuchara del reactivo Ph-1K hasta que el reactivo se haya disuelto completamente, se agrega una segunda microcuchara del reactivo Ph-2K y se agita. Se dejó en reposo por un minuto y se mide el contenido polifenólico en el fotómetro. Finalmente se calcula la concentración de miligramos de contenido fenólico por gramo de muestra.

### 3.2.6 Disoluciones

En una primera instancia únicamente se utilizó agua purificada, para la segunda experiencia se utilizó una mezcla etanol – agua 50:50, solo etanol y finalmente un ensayo con acetona –agua 50:50

Dilución de muestra filtrada: Para la determinación del contenido polifenólico se realizó una dilución 1:500 debido a rango de medida del contenido del test y del fotómetro de hasta 2,5 mg / L de fenol. Para la preparación de esta dilución se tomó 20 µl del filtrado y se lo llevo a 10 ml ya que el test trabaja con este volumen. El proceso fue el mismo a excepción de los ensayos con etanol, para el cual se utilizó una dilución 1:50

### 3.2.7 Diseño experimental y estadístico

Se emplea los resultados obtenidos del contenido fenólico total en miligramos de polifenoles por gramo de hueso de aguacate para cada ensayo con diferente disolvente y a diferentes condiciones de tiempo y temperatura de exposición. Los datos se tratan en el software MODDE 6 de UNIMETRICS. Se obtiene una ecuación polinomial (modelo de predicción), utilizando un diseño full factorial de tres niveles con dos repeticiones del punto central con un grado de confianza del 95%.

$$\text{Conc de fenol} \left( \frac{\text{mg de polifenoles}}{\text{g de muestra}} \right) = A - B + CT - DtT \quad \text{ecuación 1}$$

### 3.2.8 Método para la determinación de la capacidad antioxidante.

La determinación de la capacidad antioxidante indica la concentración del compuesto antioxidante necesaria para reducir la concentración de 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH) en un 50% expresado en TE(mg) de trolox. Para lo cual se sigue

la metodología descrita por Marca – Williams, Cuvelier y Berset (1995). El cual se fundamenta en la decoloración del radical 2,2-difenil-1-picrilhidracilo de morado a amarillo debido a la reducción de DPPH a DPPH-H por donación de un átomo de hidrógeno de las sustancias antioxidantes (AOH), medida a una absorbancia de 517nm (Oliveira 2014). La reacción mide la concentración de DPPH tras reaccionar con la muestra empleando una curva de calibrado con diferentes diluciones de DPPH.

Los extractos de las semillas en el disolvente empleado (regularmente metanol, etanol o acetona) se diluyen (1:10 o 1:20), se mezcla una alícuota de 33  $\mu$ L de extracto con 2000  $\mu$ L de solución DPPH ( $6 \times 10^{-5}$  M). Se deja reaccionar por 6 min a T° ambiente y procede a medir a 517nm y el resultado se expresa en Trolox por gramo de materia fresca (Rodríguez 2011).

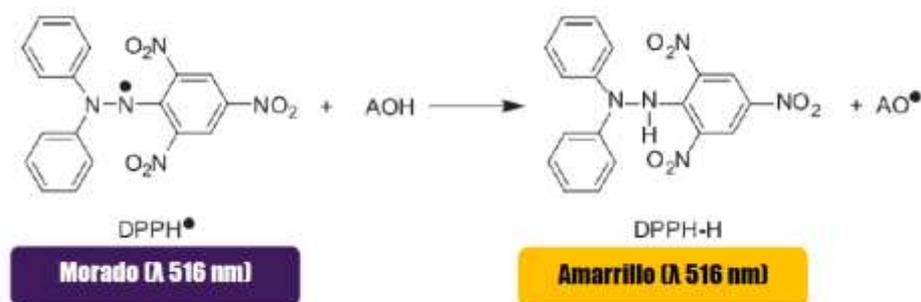


Figura 3.2-1 Reacción del radical estable DPPH con un compuesto antioxidante tomado de Oliveira 2014.

## 4 Resultados

### 4.1 Resultados del porcentaje de humedad en el hueso de aguacate

Un alto grado de humedad como se menciona anteriormente es propenso a ser un contaminante para el hueso de aguacate que debemos reducirlo para aumentar su viabilidad. Para el cual por diferencia de masa y expuesto a una temperatura de 100°C por 24 horas se trató de eliminar la mayor cantidad de agua en la semilla dando los siguientes resultados expresados en la tabla 4.1-1 con una media de  $45,67^\circ\text{C} \pm 2,79$  de humedad.

Tabla 4.1-1 Porcentaje de humedad del hueso de aguacate.

Grupo	Peso Hueso g	Peso 100 °C	% humedad
1	663,15	310,24	46,78
2	1905,20	913,28	47,94
3	1169,12	564,57	48,29
4	988,50	420,06	42,49
5	1544,68	662,17	42,87
	Promedio		$45,67 \pm 2,79$

## 4.2 Resultados de polifenoles totales en el hueso del aguacate

Aplicando una variación de temperatura y tiempo de exposición a cada experimento de acuerdo a la tabla 3.2-1. Se procedió a la extracción de los compuestos fenólicos por maceración con agua, mezcla metanol-agua, etanol y acetona-agua, con una agitación de 500rpm durante una hora. Una vez obtenido el filtrado se determina el contenido de compuestos fenólicos mediante un test en cubetas fenol. El contenido fue expresado en miligramos por litro de fenol (mg/L de fenol) y finalmente en miligramos de compuestos fenólicos por gramos de muestra (mg/g de muestra).

### 4.2.1 Concentración de polifenoles con disolvente agua.

Los resultados para el primer ensayo con disolución agua se obtuvo lo siguiente:

Tabla 4.2-1 Concentración de polifenoles por gramos de hueso en disolvente agua

Experimento	Tiempo (min )	Temperatura (°C)	Concentración mg fenol/g de hueso
1	0	40	1,69
2	60	40	1,46
3	120	40	1,60
4	0	95	1,80
5	60	95	1,67
6	120	95	1,51
7	0	150	1,95
8	60	150	1,55
9	120	150	1,47
10	60	95	1,65
11	60	95	1,66

En este ensayo se obtuvo la siguiente ecuación polinomial del modelo de extracción:

$$conc\ fenol = 1.667 - 0,1433t + 0,0325T - 0,0975tT \text{ (ecuación 2).}$$

Con un  $R^2$  de 0,993 y un  $R^2$  ajustado de 0,990 con un máximo de  $t = -1$  y  $T = +1$ . En el cual se obtuvo los siguientes valores pronosticados reflejados en la tabla 4.2-2. La concentración más alta de fenol de en el experimento 7 que es de 1,95 mg fenol/g de hueso.

Tabla 4.2-2 Modelo de extracción del contenido fenólico-disolvente agua.

Exp.	Modelo	diferencias	% error
1	1,68	-0,01	0,6%
2	1,63	0,18	10,7%
3	1,59	-0,01	0,5%
4	1,81	0,01	0,6%
5	1,67	0,00	0,1%
6	1,52	0,01	0,8%
7	1,94	-0,01	0,5%
8	1,70	0,15	8,9%
9	1,46	-0,01	0,6%
10	1,67	0,01	0,8%
11	1,67	0,00	0,3%

Nota: El siguiente modelo utiliza un porcentaje de confianza del 95% y dos valores son descartados por su alto porcentaje de error que corresponden al experimento 2 y 8.

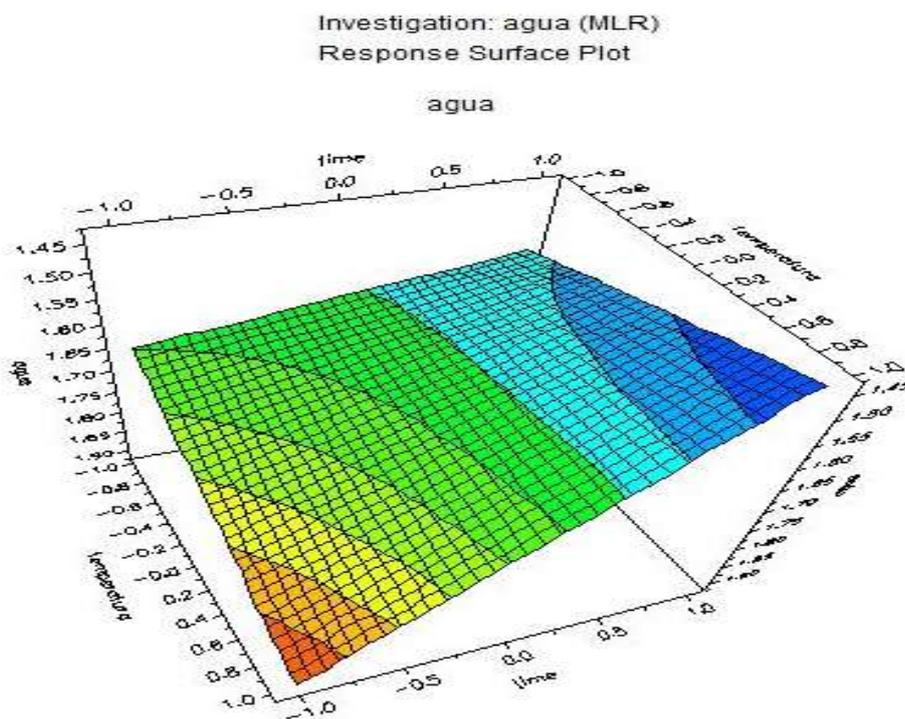


Figura 4.2-1 Superficie de respuesta, cantidad de polifenoles totales (mg fenol/g muestra) versus temperatura (°C) y tiempo (min) de exposición. Fuente este estudio.

#### 4.2.2 Concentración de polifenoles con disolvente etanol / agua.

Los resultados para el segundo ensayo con disolución etanol / agua 50:50 se obtuvo lo siguiente:

Tabla 4.2-3 Concentración de polifenoles por gramos de hueso en etanol-agua.

Exp.	Tiempo (min )	Temperatura (°C)	Concentración mg fenol/g de hueso
1	0	40	2,76
2	60	40	3,46
3	120	40	3,67
4	0	95	3,48
5	60	95	3,36
6	120	95	3,16
7	0	150	4,32
8	60	150	3,46
9	120	150	2,17
10	60	95	3,37
11	60	95	3,38

En este ensayo se obtuvo la siguiente ecuación polinomial del modelo de extracción:

$$\text{conc fenol} = 3,32636 - 0,26t + 0,01T - 0,765tT \text{ (ecuación 3).}$$

Con un  $R^2$  de 0,962 y un  $R^2$  ajustado de 0,945 con un máximo de  $t = -1$  y  $T = +1$ . En el cual se obtuvo los siguientes valores pronosticados reflejados en la tabla 4.2-4. La concentración más alta de fenol de en el experimento 7 que es de 4,32 mg fenol/g de hueso.

Tabla 4.2-4 Modelo de extracción del contenido fenólico-disolvente etanol-agua.

Exp.	modelo	diferencias	% error
1	2,81	0,05	1,8%
2	3,32	-0,14	4,3%
3	3,82	0,15	4,0%
4	3,59	0,11	3,0%
5	3,33	-0,03	1,0%
6	3,07	-0,09	3,1%
7	4,36	0,04	0,9%
8	3,34	-0,12	3,7%
9	2,31	0,14	6,1%
10	3,33	-0,04	1,3%
11	3,33	-0,05	1,6%

*Nota:* El siguiente modelo utiliza un porcentaje de confianza del 95% y un valor fue descartado por su alto porcentaje de error que corresponden al experimento 9.

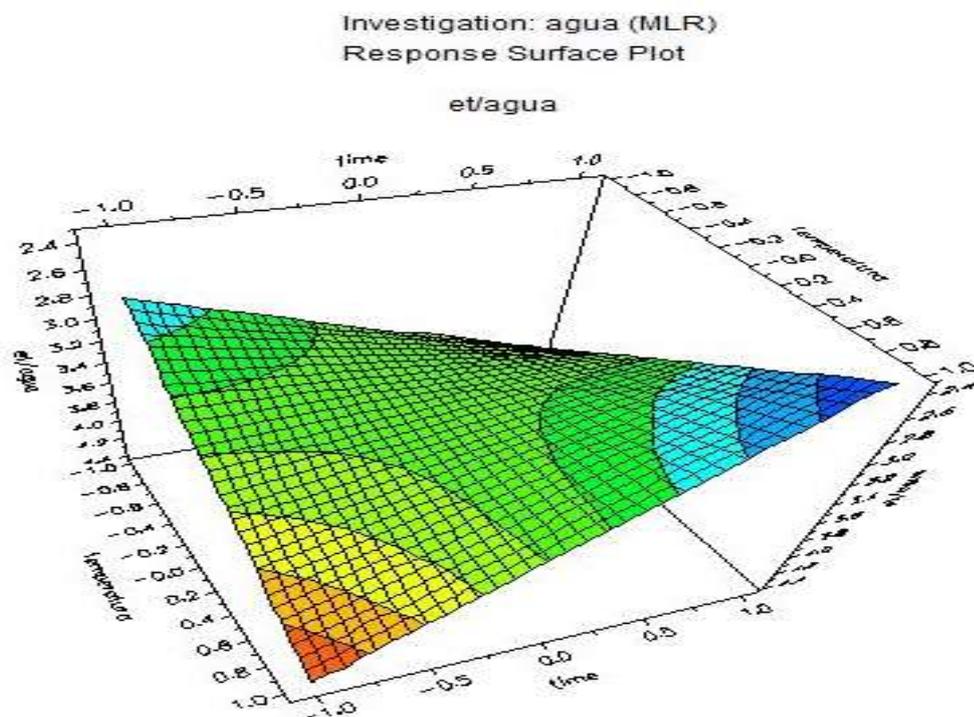


Figura 4.2-2 Superficie de respuesta, cantidad de polifenoles totales (mg fenol/g muestra) versus temperatura (°C) y tiempo (min) de exposición. Fuente este estudio.

### 4.2.3 Concentración de polifenoles con disolvente etanol.

Los resultados cuando se empleó como disolvente etanol, no fueron significativos, ya que no se pudieron extraer los polifenoles o al menos no fueron detectados.

Tabla 4.2-5 Concentración de polifenoles por gramos de hueso en etanol.

Exp	Tiempo (min )	Temperatura (°C)	Concentracion mg fenol/g de hueso
1	0	40	0,25
2	60	40	0,31
3	120	40	0,26
4	0	95	0,28
5	60	95	0,27
6	120	95	0,41
7	0	150	0,29
8	60	150	0,21
9	120	150	0,18
10	60	95	0,32
11	60	95	0,24

#### 4.2.4 Concentración de polifenoles con disolvente acetona -agua.

Para el cuarto ensayo con disolución acetona/agua 50:50 se obtuvo lo siguiente:

Tabla 4.2-6 Concentración de polifenoles por gramos de hueso en acetona-agua.

Exp.	Tiempo (min )	Temperatura (°C)	Concentración mg fenol/g de hueso
1	0	40	3,77
2	60	40	4,18
3	120	40	4,54
4	0	95	3,73
5	60	95	3,82
6	120	95	2,49
7	0	150	3,67
8	60	150	2,81
9	120	150	2,46
10	60	95	3,81
11	60	95	3,82

En este ensayo se obtuvo la siguiente ecuación polinomial del modelo de extracción:

$$\text{conc fenol} = 3,6506 - 0,10388t - 0,5917T - 0,495tT \quad (\text{ecuación 4})$$

Con un R<sup>2</sup> de 0,950 y un R<sup>2</sup> ajustado de 0,925 con un máximo de t = +1 y T= -1. En el cual se obtuvo los siguientes valores pronosticados reflejados en la tabla 4.2-7. La concentración más alta de fenol de en el experimento 3 que es de 4,54 mg fenol/g de hueso.

Tabla 4.2-7 Modelo de extracción del contenido fenólico-disolvente acetona-agua.

Exp	modelo	diferencias	% error
1	3,85	0,08	2,1%
2	4,24	0,06	1,5%
3	4,63	0,09	2,0%
4	3,75	0,02	0,7%
5	3,65	-0,17	4,6%
6	3,55	1,06	29,8%
7	3,66	-0,01	0,3%
8	3,06	0,25	8,1%
9	2,46	0,00	0,0%
10	3,65	-0,16	4,5%
11	3,65	-0,17	4,6%

*Nota:* El siguiente modelo utiliza un porcentaje de confianza del 95% y dos valores son descartados por su alto porcentaje de error que corresponden al experimento 6 y 9.

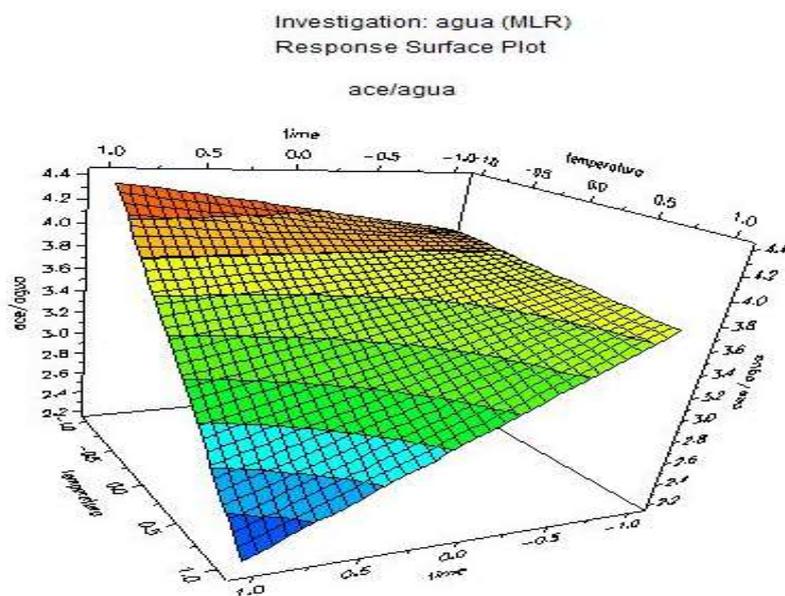


Figura 4.2-3 Superficie de respuesta, cantidad de polifenoles totales (mg fenol/g muestra) versus temperatura (°C) y tiempo (min) de exposición. Fuente este estudio.

Los resultados demuestran que aplicando altas temperaturas con tiempo de exposiciones cortos se tiene las concentraciones más altas para los ensayos con solvente agua a tiempo 0 y temperatura de 150 °C se obtuvo una concentración de fenol 1,95 mg de fenol por gramo de hueso de aguacate (mg/g). Para el ensayo con solvente etanol agua al 50:50 se obtuvo la mayor concentración de 4,32 mg a tiempo cero y una temperatura de 150 °C y con acetona – agua al cincuenta por ciento la mayor concentración de fenoles que fue de 4,54 mg/g se obtuvo a 120 min de exposición y a una temperatura de 40 °C.

Para el ensayo de únicamente con etanol los valores obtenidos no fueron de confianza, con concentraciones muy bajas ni se pudo ajustar a un modelo de extracción.

Con respecto a los modelos de la cinética de la extracción los valores pronosticados con los obtenidos en su mayoría tenemos un porcentaje de error por debajo del 5% y se despreciaron los resultados que tuvieron un porcentaje de error por encima del grado de confianza. Los valores que no se tomaron en cuenta fueron para el primer ensayo (disolvente agua) el experimento 2 y 8.

### 4.3 Resultados esperados de la capacidad antioxidante.

La siguiente grafica es el resultado del estudio en la determinación de la capacidad antioxidante de residuos de Aguacate realizado por Segovia et all. El cual refleja la presencia del disolvente a diferentes temperaturas en relación a la capacidad antioxidante en miligramos de Trolox por litro de solución de muestra obtenida (Segovia 2013).

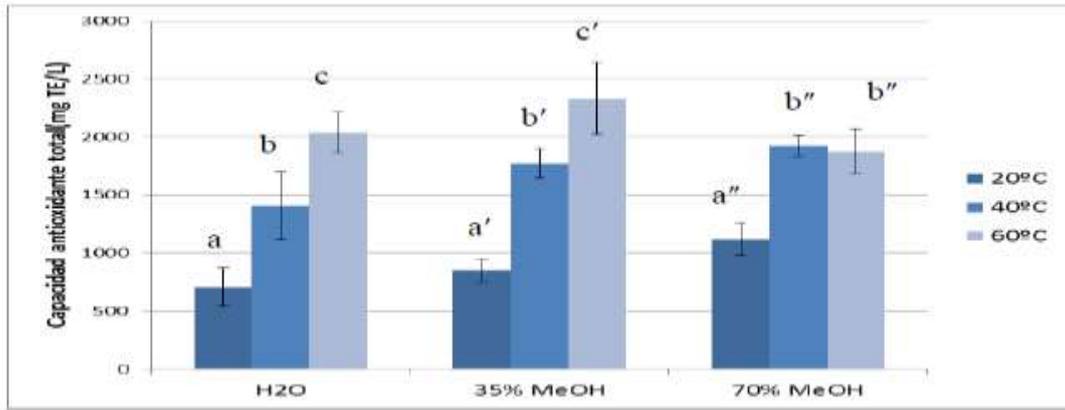


Figura 4.3-1 Capacidad antioxidante total de los extractos de la semilla de aguacate medidos en equilibrio tomado de Segovia 2013.

En la siguiente grafica observamos los resultados con disolvente agua un valor máximo de la capacidad antioxidante de 2000mg TE/L a 60 °C seguido de la concentración con la mezcla metanol /agua al 35% un valor máximo de todos los ensayos por encima de los 2300mg TE/L a la temperatura máxima experimental de 60°C. En un tercer ensayo se observa un máximo de la capacidad antioxidante por debajo de los 2000 mg TE/L a una temperatura de 40 °C. Además, en todos los ensayos se observa que el valor mínimo de la capacidad antioxidante está a 20°C siendo mayor de 500 mg TE/L en agua, por debajo de los 1000mgTE/L para metanol agua al 30% y finalmente por encima de los 1000 mg TE/L de metanol / agua al 70% (Segovia 2013).

## 5 Discusión

Se analiza los resultados obtenidos en el cálculo de porcentaje de humedad alrededor de los  $45,67\% \pm 2,79$  para la semilla de aguacate tipo Hass. El ensayo permite relacionar valores prácticos con los ensayos encontrados de forma bibliográfica siendo estos semejantes ya que el valor teórico es alrededor de los 51% de humedad, pero cabe recalcar que el hueso de aguacate expuesto a una temperatura alta y con un largo tiempo de exposición (100°C por 24 horas) en el estudio la muestra no se encuentra carbonizada, únicamente presentan un aspecto de estar tostadas (Figuroa 2018). Algunos estudios mencionan que temperaturas mayores a 40 °C carbonizaban el hueso como menciona Figuroa et al. 2018. Cabe recalcar que una alta humedad aproximadamente mayor al 60 % es susceptible de contaminación por lo cual en nuestro estudio nos aseguramos de un buen proceso de secado obteniendo un porcentaje de secado del  $45,6\% \pm 2,79$  de humedad que asegura la viabilidad con respecto a la posible contaminación de nuestra muestra en

la obtención del contenido fenólico. Aunque la temperatura aplicada en la deshidratación afectaría la concentración del contenido fenólico final ya que se ha demostrado en estudios como los de Saavedra et al. Que la temperatura óptima para una mayor concentración de fenoles en el hueso es de alrededor de 65,5°C con tiempo de exposición máximo de 5 horas y al aplicar una temperatura de secado 100°C por 24 horas posiblemente afectó la concentración del contenido polifenólico final por la naturaleza termolábil de los componentes que se encontraron en el hueso, por lo se debe optimizar el proceso de deshidratación con métodos alternativos o menos temperatura de secado (Saavedra 2017).

En la extracción es de suma importancia el tipo de solvente y el tiempo que permanece en maceración con el mismo, por lo que en nuestro trabajo se trabajó con los solventes que presentaban mejores resultados en otros estudios además el tiempo con el solvente era muy controlado ya que al momento de extraer los compuestos fenólicos (mayor polaridad) suponemos que juega un papel importante la polaridad del solvente empleado, obteniendo mejores resultados en las mezclas de solventes como fueron etanol-agua y acetona –agua (50/50) con los valores más altos de la extracción de 4,32 y 4,54 mg / g respectivamente mientras que únicamente con agua se obtuvieron valores alrededor del 2 % posiblemente a que eran obtenidos únicamente componentes hidrofílicos y la mezcla permitió obtener más componentes polifenólicos (Valencia 2017). Únicamente con etanol se obtuvieron concentraciones muy bajas además de tener resultados que no eran fiables ya que al momento del cálculo de la concentración con el kit de detección de polifenoles no se formó el complejo coloreado para la detección en el fotómetro los resultados obtenidos tampoco se ajustaron a un modelo cinético de extracción por lo que estos resultados fueron despreciados.

El presente trabajo determinó la concentración del contenido fenólico aplicando variaciones de temperatura y tiempo de exposición como se muestra en la tabla 3.2-1, los resultados que se obtuvieron experimentalmente en el ensayo con agua tiene las concentraciones más altas de fenoles en los experimentos que se aplica una mayor temperatura pero con tiempos de exposición menor es así que las concentraciones más elevadas están a 150°C con tiempo cero minutos con una concentración de fenoles de 1,95 mg/g de muestra. Los datos obtenidos nos sirvieron para un modelado estadístico que se ajusta a la ecuación 2 y la concordancia entre los datos experimentales con los de

predicción se muestran en la tabla 4.1-3 con un ajuste de 0,99 y  $R^2$  0,99 demostrando que el modelo cinético describe acertadamente el proceso que se realizó, con esto se descartó dos valores que se encuentran por debajo de lo predestinado por el modelo estadístico en el caso de los experimentos a 150 °C las concentraciones tienden a disminuir por la característica termolábil propia de los compuestos fenólicos (Sánchez 2008).

Para el ensayo de etanol – agua no se descartó ningún resultado obtenido de la concentración de fenol por gramo de hueso de aguacate y los resultados obtenidos representados en la tabla 4.1-4, permitieron tener un modelo estadístico que corresponde a la ecuación 3 con un  $R^2$  de 0,962 y un  $R^2$  ajustado de 0,945 en el que el punto máximo el cual demuestra las mejores condiciones para obtener la concentración más alta de fenoles fue a menor tiempo de exposición con temperatura alta en nuestro ensayo fue el experimento 7 en la tabla 4.1-4 con 4,32mg de fenol por gramo de hueso de aguacate. En lo que corresponde a los valores de predicción todos estuvieron dentro del grado de confianza. Por lo tanto, este permitió confirmar que debido a la condición del disolvente en este caso su constante dieléctrica permitirá optimizar la extracción a altas temperaturas comparando con el estudio Ciulu et al 2017. El cual encontró un rendimiento mayor con tratamientos que tiene una constante dieléctrica que va desde los 26 hasta los 36 con una disolución etanol – agua 50% a una temperatura de 200°C que concuerda con el modelo cinético resultante de este ensayo (Figuroa 2018).

Los valores obtenidos en nuestro ensayo en comparación con estudios previos por mencionar algunos de Bressani, Rodriguez, y Wang son bajos ya que en estos estudios de referencia el contenido fenólico está sobre los 50 mg / g. Uno de los múltiples factores que afectan la concentración de contenido fenólico es el solvente utilizado. En comparación con los estudios mencionados se utilizó una mezcla de acetona – agua 50:50 siendo más eficiente que la disolución de etanol utilizado en la extracción de fenoles debido a su particular polaridad y su gran capacidad de extracción. (Rodríguez 2011). Por lo tanto, siendo un solvente de mayor eficiencia se aplicó en otro ensayo y así comparar el rendimiento de este solvente y poder hacer una relación costo beneficio ya que el etanol presenta un menor costo de adquisición con respecto a la acetona y en nuestra investigación queremos aprovechar el máximo del contenido fenólico del hueso de aguacate tipo Hass al menor costo posible para que a mediano plazo sea un posible emprendimiento en la industria del aprovechamiento del Aguacate. Los resultados que se

obtuvieron representados en la tabla 4.1-6 nos permitió obtener un modelo estadístico que corresponde a la ecuación 4 con un  $R^2$  de 0,950 y un  $R^2$  ajustado de 0,925 que de acuerdo con la respuesta a la superficie las condiciones óptimas, son con un tiempo de exposición mayor y a menor temperatura es así que el experimento tres de la tabla 4.1-6 presenta una concentración de 4,54 mg de fenol por gramo de hueso que comparándolo con el valor pronosticado existe tan solo un 2% de error de esta manera se representa un modelo fiel de extracción con una buena aproximación experimental. En este caso las condiciones son muy similares cuando utilizamos un disolvente metanol: agua debido a la similitud de sus constante dieléctrica para acetona: agua alrededor de 35 (Segovia 2013). Los que nos permite comparar con estudios previos y dependiendo del fin o los recursos que se dispongan podemos manipular las variables y de esta manera enfocar nuestro modelo de extracción de polifenoles y al aprovechamiento del hueso de aguacate.

Como se observa en los resultados, la evaluación del contenido fenólico a diferentes temperaturas de secado y tiempos de exposición presentaron un efecto significativo que se puede apreciar en la totalidad de su contenido fenólico. Es así que los mejores resultados son aquellos con los tiempos de exposición más altos o de igual manera temperaturas más altas como se puede apreciar en los resultados obtenidos con un sentido de extracción mayor cuanto mayor transferencia de masa (Herrero 2013). Estos resultados aluden que la temperatura de secado tiene un efecto significativo pero que puede ser alterado por otra variación como es el tiempo de exposición de secado que alteraría el rendimiento de la extracción en el hueso del aguacate. En condiciones óptimas nuestro mejor resultado fue una concentración alrededor de los 4,50 mg de fenol por gramo de hueso de aguacate teniendo en cuenta que el hueso de aguacate para nuestro estudio tiene una media de  $33,81 \pm 5,99$  gramos, obtendríamos por hueso de aguacate 152,18 mg (Figueroa 2018). Ya que existe formulaciones que utilizan polifenoles en productos que van en concentraciones desde el 0,5 %, el 1% hasta del 10% en la industria farmacéutica, neutraceutica e industrial tenemos una alternativa para la obtención de estos componentes (Elsabee 2013).

En referencia a los resultados del estudio realizado por Segovia et al 2016. Utiliza una disolvente agua , además de una mezcla orgánica agua para la extracción de los componentes polifenólicos y su posterior análisis de la capacidad antioxidante parte complementaria al ensayo que se quiso realizar en el ensayo con el interés direccionado

a la capacidad neutracéutica del hueso de aguacate como antioxidante en el cual se obtuvieron resultados de una mayor concentración de antioxidantes en miligramos de Trolox por litro de la especia obtenida reflejando en los dos primeros casos una mayor capacidad antioxidante en disolución agua y metanol/agua 35% a una mayor temperatura de 60 °C como se esperaría aunque en el tercer caso con disolución metanol/ agua al 70 % se observó que la concentración de antioxidantes disminuye debido a que los compuestos más termolábiles a altas temperaturas pierden su capacidad antiradicalaria (Segovia 2013). Se espera que la capacidad antioxidante sea aún menor por que las temperaturas aplicadas sobrepasan los 60 °C llegando hasta los 155°C, se espera concentraciones bajas en los ensayos desde el cinco al nueve, condiciones reflejadas en la tabla 3.2-1. De igual manera en el ensayo de Segovia et al. No muestra mejores condiciones de extracción al utilizar una disolución que tiene mayor cantidad el solvente orgánico ya que mejor resultado se obtiene de una mezcla solvente orgánica agua aproximadamente 50:50 como reflejan el estudio de Segovia y los resultados obtenidos en el ensayo, posiblemente la naturaleza de los compuestos polifenólicos presentes en la semilla sean más solubles en agua y así se extrae varios tipos de compuestos (Segovia 2013).

## **6 Conclusiones**

Se ha estudiado una posibilidad de aprovechamiento mediante la extracción de compuestos polifenólicos del hueso de aguacate tipo Hass subproducto de la elaboración de guacamole.

Con la medición de parámetros físicos como color, tamaño, y peso se determinó características pertenecientes al aguacate tipo Hass.

Además, se determinó la humedad de 45, 67%  $\pm$  2,79 de la semilla y se optimizó el proceso de deshidratación a cien grados centígrados por veinticuatro horas disminuyendo su proporcionalidad como un factor que altera la concentración del contenido fenólico en la semilla de aguacate.

Se evaluó diferentes condiciones de temperatura y tiempos de exposición a diferentes tipos de solventes con los cuales se determinaron diferentes modelos cinéticos de extracción de los compuestos fenólicos.

Con la evaluación de los componentes fenólicos mediante el test espectrofotométrico, se determinó su concentración en miligramos de fenol por gramo de hueso de aguacate, en la cual influye la naturaleza del disolvente la temperatura y el tiempo de exposición. Es así que utilizando disolvente agua y etanol – agua al 50 % se tienen un modelo de extracción mejor a menor tiempo y a altas temperaturas. Con la mezcla acetona- agua al 50% las condiciones óptimas fueron a menor temperatura con un mayor tiempo de exposición.

## 7 BIBLIOGRAFÍA

- Agrela Irma F., Hidalgo Y., Herrera F. (2014). Efecto larvicida de extractos metanolicos obtenidos de la semilla y hojas de *Persea americana* sobre *Aedes aegypti* . Boletín de Malariología y Salud ambiental, 54(2), 199-207.
- Andi Nur Fitriani A, Suminar S., Suparto I.H., (2017). Triterpenoid of avocado (*Persea americana*) seed and its cytotoxic activity toward breast MCF-7 and liver HepG2 cancer cells, Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, Vol. 7, Issue 5, 2017, Pages 397-400.
- Barbosa-Martína E, Chel-Guerrero L, González-Mondragón E, Betancur-Ancona D. (2016). Chemical and technological properties of avocado (*Persea americana* Mill.) seed fibrous residues. Food and Bioproducts 2016; 100: 457-463.
- Barreto W. (2014). Actividad antioxidante de los residuos del aguacate Hass (*Persea americana* Mill. Var Hass) sometidos a extracciones clásicas y a fluidos presurizados (tesis de maestría). Universidad Nacional de Colombia Química Agroalimentaria y Ambiental. Colombia.
- Bernal J., Díaz C., Tamayo A., Córdoba O., Londoño M. (2008). Tecnología para el Cultivo del aguacate. Antioquia, Colombia: CORPOICA Centro de Investigación La Selva.
- Calderon O. Comparative study of the microencapsulation by complex coacervation of nisin combination with an avocado antioxidant extract Antiprotozoal and antimycobacterial activities of *Persea americana* seeds.
- Calderón-Oliver M., Pedroza-Islas R., Escalona-Buendía H., Pedraza-Chaverri J., Ponce-Alquicira, E. (2017). Comparative study of the microencapsulation by complex coacervation of nisin in combination with an avocado antioxidant extract. Food Hydrocolloids, 62, 49-57.
- Chen H., Morrell, P. L., Ashworth V. E., De La Cruz M., Clegg, M. T. (2008). Tracing the geographic origins of major avocado cultivars. Journal of Heredity, 100(1), 56-65.
- Domínguez M.P., Araus K., Bonert P., Sánchez F., San Miguel G., Toledo M. (2014) The Avocado and Its Waste: An Approach of Fuel Potential/Application. In: Lefebvre G., Jiménez E., Cabañas B. (eds) Environment, Energy and Climate Change II.(pp. 199-233). The Handbook of Environmental Chemistry, vol 34. Springer.

- Elsabee M., Abdou, E. (2013). Chitosan based edible films and coatings: A review. *Materials Science and Engineering: C*, 33(4), pp.1819-1841.
- Fernandez-Larrea J., Pinent M., Bladé, M., Salvadó, M., Blay, M., Pujadas, G., Ardèvol A., Arola L. (2007). Alimentos ricos en procianidinas, alimentación funcional para prevenir la aparición de síndrome metabólico. *Revista Espanola de Obesidad*. 5. 98-108.
- Ferreira R., Sellés G., Saavedra J., Ortiz J., Espinoza, C., Troncoso C., Rivera S., González-Agüero M., Defilippi B.G. (2016). Identification of pre-harvest factors that affect fatty acid profiles of avocado fruit (*Persea americana* Mill) cv. 'Hass' at harvest. *South African Journal of Botany*. 104. 15-20. 10.1016/j.sajb.2015.10.006.
- Figueroa J., Borrás-Linares I., Lozano-Sánchez J., Segura-Carretero A. (2018) Caracterización de compuestos fenólicos de subproductos de origen vegetal mediante cromatografía de líquido de alta resolución acoplada a espectrometría de masas y evaluación de la actividad biológica. Centro de investigación y desarrollo de alimentos (CIDAF). ISBN 978-84-1306-011-8.
- Guija-Poma E., Inocente-Camones, M.A., Ponce-Pardo J., Zarzosa-Norabuena, E. (2015). Evaluación de la técnica 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo (DPPH) para determinar capacidad antioxidante. *Horizonte Médico (Lima)*, 15(1), 57-60.
- Hernández C., García M., Gutierrez A., Benavides A., Rodriguez G. (2012) Antimicrobial, antibacterial and spore germination inhibiting activity from an avocado extract enriched in bioactive compounds. Google Patents.
- Herrero M., Castro-Puyana J.A., Mendiola E. (2013), Compressed fluids for the extraction of bioactive compounds, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, Volume 43, 2013, Pages 67-83, ISSN 0165-9936.
- Jiménez-Arellanes A., Luna-Herrera J., Ruiz-Nicolás R., Cornejo-Garrido J., Tapia, A., Yépez-Mulia, L. (2013). Antiprotozoal and antimycobacterial activities of *Persea americana* seeds. *BMC complementary and alternative medicine*, 13, 109. doi:10.1186/1472-6882-13-109
- Magnani C., Vera I, Corrêa M., Salgado H. (2014). Caffeic acid: A review of its potential use in medications and cosmetics. *Analytical Methods*. 6. 3203. 10.1039/c3ay41807c

- Nwaoguikpe R, Braide W, Ujowundu C. (2011) Biochemical composition and antimicrobial activities of the seed extracts of Avocado (*Persea americana*). *Journal of Microbiology and Antimicrobials* 3(7), 184-190.
- Olatunji O., Ekpo C., Ukoha-Onuoha E. (2017). Preparation and Characterization of Activated Carbon from Avocado Pear (*Persea Americana*) Seed Using H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, HNO<sub>3</sub>, and H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> Activating Agent Citation Characterization of Activated Carbon from Avocado Pear (*Persea Americana*) Seed Using H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, HNO<sub>3</sub>, and H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> Activating Agent. *International Journal of Ecological Science and Environmental Engineering*. 4. 43-50.
- Padilla E., Martínez-Velázquez M., Flores-Fernández J., Villanueva S. (2013). Acute Toxicity and Genotoxic Activity of Avocado Seed Extract (*Persea americana* Mill., c.v. Hass). *TheScientificWorldJournal*. 2013. 245828. 10.1155/2013/245828.
- Padmanabhan M, Arumugam G. (2014) Effect of *Persea americana* (avocado) fruit extract on the level of expression of adiponectin and PPAR- $\gamma$  in rats subjected to experimental hyperlipidemia and obesity. *J Complement Integr Med*. 2014 Jun;11(2):107-19. doi: 10.1515/jcim-2013-0053. PMID: 24770838.
- Peláez A. 2017. Prensa Malagueña, S.A.  
<https://www.diariosur.es/malaga/201703/01/industria-guacamole-malaga-conquista-20170301013232-v.html>
- Peñarrieta J., Tejada M., Mollinedo L., Vila P., Bravo, José A. (2014). Phenolic compounds in food. *Revista Boliviana de Química*, 31(2), 68-81. Recuperado en 09 de marzo de 2020.
- Quiñones M., Miguel M., Alexandre, A. (2012). Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Nutrición Hospitalaria*, 27(1), 76-89.
- Rodríguez-Carpena J. G., Morcuende D., Andrade M. J., Kylli P., Estévez, M. (2011a). Avocado (*Persea americana* Mill.) phenolics, in vitro antioxidant and antimicrobial activities, and inhibition of lipid and protein oxidation in porcine patties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(10), 5625-5635.
- Saavedra J., Córdova A., Navarro R., Díaz-Calderón P., Fuentealba C., Astudillo-Castro C., Toledo L., Enrione J., Galvez L. (2017). Industrial avocado waste: Functional compounds preservation by convective drying process, *Journal of Food Engineering*, Volume 198, 81-90.

- Sánchez Guerrero, M. Sineiro Torres, J. Nuñez M. (2008). Extraction of polyphenols from white distilled grape pomace: Optimization and modelling, *Bioresource Technology*, Volume 99, Issue 5, 2008, Pages 1311-1318, ISSN 0960-8524.
- Segovia FJ, Corral-Pérez JJ, Almajano MP. (2016) Avocado seed: Modeling extraction of bioactive compounds. *Ind Crops Prod* 2016; 85: 213-220.
- Spigno, G. & Tramelli, L. (2007). Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. *Journal of Food Engineering - J FOOD ENG*. 81. 200-208. 10.1016/j.jfoodeng.2006.10.021.
- Sutrisna E.M., Azizah, S., Oktaria, Y.E. (2015). The hypoglycemic effect of avocado seed (*Persea Americana* Mill) and histopathologic profile. 6. P136-P141.
- Torres R., Garbo A., Walde R. (2014). Larvicidal activity of *Persea americana* Mill. Against *Aedes aegypti*. *Asian Pacific journal of tropical medicine* 7S1.S167-70.
- Valencia Avilés, E., Figueroa, I. I., Sosa Martínez, E., Bartolomé Camacho, M. C., Martínez Flores, H. E., & García Pérez, M. E. (2017). Polifenoles: propiedades antioxidantes y toxicológicas. Retrieved from <http://dspace.ucuenca.edu.ec/handle/123456789/29781>.
- Vivero S. A., Valenzuela B. R., Valenzuela B. A., Morales G. (2019). Palta: compuestos bioactivos y sus potenciales beneficios en salud. *Revista chilena de nutrición*, 46(4), 491-498.
- Wang W., Bostic T.R., Gu, L. (2010). Antioxidant capacities, procyanidins and pigments in avocados of different strains and cultivars. *Food Chemistry*. 122: 1193-1198.
- Zhang B., Cai J., Duan C. Q., Reeves M. J., He F. (2015). A review of polyphenolics in oak woods. *International journal of molecular sciences*, 16(4), 6978–7014.

## 8 ANEXOS

### 8.1 Anexo 1. Curriculum vitae

#### **Datos Personales:**

Nombres: Damián Alexander

Apellidos: Flores Rubio

Dirección:

Mira, Carchi- Ecuador Av. Ulpiano Palacios y Bolívar 040302

Jaén, Jaén. España Pintor Nogue - 23009

Teléfono: +34 698203404

Email: demiso89@yahoo.com; [demisoxd@gmail.com](mailto:demisoxd@gmail.com)



#### **Objetivo Profesional**

Trabajar en algún cargo que se relacione con mi preparación profesional en ciencias químicas y biológicas, así ganaré experiencia a nivel personal y profesional siendo partícipe o colaborando con mi preparación resolviendo problemas que aquejan la misión, visión y objetivos que tenga el lugar donde desempeñe un trabajo.

#### **Estudios Realizados:**

Primaria: Escuela General Rafael Arellano; Mira -Carchi

Secundaria: Unidad educativa Carlos Martínez Acosta; Mira- Carchi

Título Bachiller en Ciencias Generales optativa Químico – Mira-  
Carchi

Superior: Universidad Central - Facultad de Ciencias Químicas

Título: Bioquímico Clínico – Quito – Pichincha

Tercer nivel: Universidad de Jaén – España

Máster oficial en Biomedicina y Biotecnología



#### **CURSOS REALIZADOS:**

Mantenimiento de computadores **CENTRO DE CAPACITACIÓN**

**KAROL WOJTYLA**

Quito, Julio del 2011 Acuerdo ministerial N° 1502 (120 horas)



Suficiencia en manejo de herramientas informáticas - Facultad de Ingeniería Informática UCE. (30 horas)

Suficiencia A2 del Idioma Inglés – Centro universitario de Idiomas certificado No-9636

Validación de ensayos Clínicos para acreditación en la Norma ISO 15189 2011 – METROCIENTIFIC (16 horas)



Jornada Científica Internacional – Nuevas Alternativas para el control de la zoonosis – Centro de información Integral de Zoonosis (C.I.Z) Quito, 2012. (8 horas)



Diploma- Congreso Latinoamericano de Bioquímica Clínica y Ciencias de Laboratorio COLABIOCLI 2015 (68 horas)

Diploma – Curso Intra- Congreso de Hematología 2015 COLABIOCLI 2015 (16 horas)



Bioseguridad en Bibliotecas – Quito, 2017 (40 horas)



Certificación internacional en - Aplicación del sistema de la calidad en los analizadores del laboratorio – Manta, 2017 (20 horas)



Congreso internacional de Biotecnología - Ibarra. 2017 (40 horas).



Sextas jornadas sobre investigación biotecnológica y biomédica – Jaén – España 2019 (3 horas).

Biopolímeros como alternativa a los plásticos.

Aspectos Bioquímicos Universidad de Malaga-

España del 4 al 9 de noviembre 2019 correspondiente a un crédito europeo 25 horas (ETCS).



Genética, disformología y asesoramiento genético Hospital

Universitari Vall d' Hebron Barcelona- España con 7 horas de duración el 14 de noviembre del 2019.



Cursos varios en Cruz Roja Española: Trabajo en Equipo 10-2019 (8 horas); Socorrismo y primeros auxilios 9-2019 (40 horas); Formación básica en medio ambiente 5-2020 (10 horas); Manipulación de alimentos 4-2020 (10 horas);



Entrega de bien y económicas 5-2020 (6 horas). Coronavirus: conocimientos básicos, medidas de prevención y epi 4-2020 (2 horas), conocimientos básicos y medidas de prevención Covid-19 3-2020 (2 horas) , Jornadas formativas ERIE ASA 3-2020 (30 horas).

### **EXPERIENCIA LABORAL:**

Unidad Educativa Carlos Martínez Acosta, ayudante de profesor de matemáticas - Mira Carchi, septiembre- octubre 2008.



Fundación Educativa Alfaguara – Instructor personal de matemática y física – Gaspar de Villaroel, Quito. Año lectivo Ago- 2013- Ene-2014. (Duración 6 meses)



Pasante (Prácticas pre-profesionales 2014-2017) en el servicio de:

Laboratorio Clínico de:

IESS Ibarra Mar, 2016- Abr, 2016 (2 meses en áreas de hematología, bacteriología y química)

Clínica Ibarra, Abr, 2013 (1 mes en áreas de hematología, uro y copro-análisis)

Clínica San Cayetano, Ene, 2016-Ago, 2016 (7 meses en áreas de hematología, química sanguínea, uro y copro-análisis)

Clínica La Merced, May, 2017-Jun, 2017 (2 meses en áreas de hematología, química y gasometría).

Laboratorio Químico: Monitoreo Ambiental y restauración de documentación en Área Histórica de biblioteca General de la Universidad Central del Ecuador May, 2017-Oct, 2017.



Publicaciones científicas en proceso.

Intervención con Cruz Roja- España (Primeros auxilios y socorro; proyecto ERIE- ASA ; intervención Social ) varias horas prácticas desde junio 2019 – hasta la actualidad 2020 a espera de certificados

## FORMACIÓN REALIZADA EN CRUZ ROJA

Nombre del curso	Codigo	Centro Convocante	Modalidad	F. Inicio	F. Fin	Nº horas	Nota
Entregas de bien y económicas	571518	Oficina Central	A distancia	12/05/2020	25/05/2020	6	Aprobado
Formacion basica en medio ambiente	571190	Oficina Central	A distancia	05/05/2020	20/05/2020	10	Aprobado
Manipulación de alimentos	570174	Oficina Central	A distancia	15/04/2020	22/04/2020	6	Aprobado
Coronavirus: conocimientos básicos, medidas de prevención y epi	570068	Oficina Central	A distancia	14/04/2020	22/04/2020	2	Aprobado
Pildora formativa coronavirus: conocimientos básicos y medidas de prevención	566513	Oficina Central	A distancia	11/03/2020	18/03/2020	2	Aprobado
Jornadas formativas erie asa	562741	Oficina Autónoma Andalucía	Presencial	06/03/2020	08/03/2020	30	Aprobado
Iniciación a primeros auxilios para voluntariado de programa de asentamientos	558048	Asamblea Comarcal de Jaén	Presencial	20/02/2020	20/02/2020	4	Aprobado
Practicas	549383	Asamblea Comarcal de Jaén	Presencial	21/12/2019	21/12/2019	10	Aprobado
Formacion basica social	505218	Asamblea Comarcal de Jaén	A distancia	30/10/2019	30/11/2019	15	Aprobado
Mejorando la intervención: trabajo en equipo	516790	Asamblea Comarcal de Jaén	Presencial	10/10/2019	10/10/2019	8	Aprobado
Socorrismo y primeros auxilios	531189	Asamblea Comarcal de Jaén	Semi presencial	17/07/2019	17/09/2019	40	Aprobado

## INFORMÁTICA

Mantenimiento de computadoras y redes Centro de capacitación Karol Wojtyla 120 horas. Nivel medio

Informática aplicada: Estadística con SPSS, Bioinformática (algunos ejemplos Emsembl, bases de datos médicos como el OMIM, NCBI, SNPnexus, Vista Browser, entre otros.) 60 horas. Universidad central y la universidad de Jaen. Nivel medio

Microsoft Office. Nivel medio

## IDIOMAS

Inglés: Hablado y escrito medio

Francés: Hablado y escrito básico.

## **HOBBIES:**

Fútbol -Federación deportiva del Carchi seleccionado sub 15

Varios Equipos de futbol, Barriales, parroquiales, cantonales, Amateur y de segunda categoría nacional. (campeón varias veces)



Instructor deportivo de edades formativas.

Música - Guitarra clásica por el maestro Raúl Villa Jaramillo-  
gobierno provincial de Imbabura



Idioma francés (suficiencia)- Universidad Técnica del Norte –Ibarra 2006

Idioma Ingles (suficiencia) – Universidad Central del Ecuador – Quito 2015

Miembro de la Iglesia Cristiana - Bestesda Mira.

## **REFERENCIAS PERSONALES:**

### **ECUADOR**

M.Cs. Luis Mafla vicerrector unidad educativa Carlos Martínez Acosta (0991801925)

Rector: Dr. Julio Bracho Teléfono: 062280699 Facsímile: 062280163

Entrenamiento deportivo Master Juan Carlos Folleco (0980607051)

[juanfo12@yahoo.com](mailto:juanfo12@yahoo.com)

Representante de iglesia Betesda Mira pastor Diego Valdivieso (0992007647)

Profesor en Fundación Educativa Alfaguara; (02) 2434117 CEL: 0987810294

Químico Ariel Vizcaino (Monitoreo Ambiental) 0969061949

Dr. Eduardo Mayorga profesor Universidad Central (09877234789)

[emayorga@uce.edu.ec](mailto:emayorga@uce.edu.ec)

### **ESPAÑA**

Dr. Juan Paragón Sánchez profesor Universidad de Jaén 953212523 [jperagon @](mailto:jperagon@ujaen.es)

[ujaen.es](http://ujaen.es)

José Luque Martos Cruz Roja española 953251540 - 953251540 [joluma@cruzroja.es](mailto:joluma@cruzroja.es).

8.2 Anexo 2. Imagen de la muestra de hueso de aguacate tipo Hass de CHIRIMVITA agorindustria.



8.3 Anexo N°2 Imagen de la preparación de la muestra para la detección del contenido fenólico.



8.4 Anexo N°3. Imagen de la determinación del compuesto fenólico en el kit Test en cubetas fenol.





1.14551.0001

## Spectroquant® Test en cubetas Fenol

### 1. Método

El fenol y derivados del fenol reaccionan con un derivado biazólico dando un azocolorante violeta rojizo que se determina fotométricamente.

### 2. Intervalo de medida y número de determinaciones

Intervalo de medida	Número de determinaciones
0,10 - 2,50 mg/l de fenol	25

Datos de programación para determinados fotómetros / espectrofotómetros, ver [www.service-test-kits.com](http://www.service-test-kits.com).

### 3. Campo de aplicaciones

El test determina el fenol, la mayoría de derivados del fenol, y algunas otras sustancias acoplables. No se determinan hidroquinona, 2-nitrofenol, 4-nitrofenol y 4-aminofenol.

#### Material de las muestras:

Aguas superficiales  
Aguas residuales

### 4. Influencia de sustancias extrañas

Ésta se comprobó de forma individual en soluciones con 2 y con 0 mg/l de fenol. Hasta las concentraciones de sustancias extrañas indicadas en la tabla la determinación todavía no es interferida. No se han controlado efectos cumulativos; sin embargo, éstos no pueden ser excluidos.

Concentración de sustancias extrañas en mg/l o en %					
Al <sup>3+</sup>	50	Fe <sup>2+</sup>	25	PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	500
Ca <sup>2+</sup>	500	Hg <sup>2+</sup>	500	S <sup>2-</sup>	0,5
Cd <sup>2+</sup>	500	Mg <sup>2+</sup>	500	SiO <sub>2</sub> <sup>2-</sup>	500
CN <sup>-</sup>	500	Mn <sup>2+</sup>	500	S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	0,5
Cr <sup>6+</sup>	500	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	500	Zn <sup>2+</sup>	500
Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> <sup>2-</sup>	50	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	5		
Cu <sup>2+</sup>	5	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	5		
F <sup>-</sup>	500	Pb <sup>2+</sup>	50		
				Cloro libre	1,5
				EDTA	1 %
				Tensioactivos <sup>110</sup>	1 %
				Na-acetato	1 %
				NaCl	20 %
				NaNO <sub>2</sub>	20 %
				Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	2 %
				Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	15 %

Interfieren todos los agentes de postprecipitación que contienen azufre destinados a tratamiento de aguas residuales.

Interfieren todos los oxidantes y reductores.

<sup>110</sup> ensayado con tensioactivos no iónicos, catiónicos y aniónicos

### 5. Reactivos y auxiliares

**¡Tener en cuenta las advertencias de peligro que se encuentran en los diferentes componentes del envase!**

Los reactivos del test son utilizables hasta la fecha indicada en el envase si se conservan cerrados entre +15 y +25 °C.

#### Contenido del envase:

1 frasco de reactivo Ph-1K  
1 frasco de reactivo Ph-2K  
25 cubetas de reacción  
1 hoja con etiquetas redondas autoadhesivas para numerar las cubetas

#### Otros reactivos y accesorios:

MQuant® Tiras Indicadoras universales pH 0 - 14, art. 109535  
MQuant® Tiras Indicadoras del pH pH 0 - 2,5, art. 109540  
Sodio hidróxido en solución 1 mol/l Titripur®, art. 109137  
Ácido sulfúrico 0,5 mol/l Titripur®, art. 109072  
Fenol para análisis, art. 100206

Pipeta para un volumen de pipeteo de 10 ml

### 6. Preparación

- Analizar las muestras inmediatamente después de la toma de muestras.
- El valor del pH debe encontrarse en el intervalo 2 - 11.  
Si es necesario, ajustar con solución de hidróxido sódico o con ácido sulfúrico.
- Filtrar las muestras turbias.

### 7. Técnica

Muestra preparada (5 - 25 °C)	10 ml	Pipetear en una cubeta de reacción.
Reactivo Ph-1K	1 microcuchara gris rasa (en la tapa del frasco Ph-1K)	Añadir y agitar vigorosamente la cubeta firmemente cerrada hasta que el reactivo se haya disuelto completamente.
Reactivo Ph-2K	1 microcuchara verde rasa (en la tapa del frasco Ph-2K)	Añadir y agitar vigorosamente la cubeta firmemente cerrada hasta que el reactivo se haya disuelto completamente.

Dejar en reposo 1 minuto (tiempo de reacción), luego medir la muestra de medición en el fotómetro.

#### Notas sobre la medición:

- Para la medición fotométrica las cubetas deben estar limpias. Si es necesario, limpiarlas con un paño seco y limpio.
- Las turbideces después de acabada la reacción dan como resultado valores falsamente elevados.
- El valor del pH de la solución de medición debe encontrarse en el intervalo 0,8 - 1,2.
- El color de la solución de medición permanece estable como mínimo 60 minutos después de transcurrido el tiempo de reacción antes indicado.
- En caso de concentraciones de fenol superiores a 100 mg/l se forman otros productos de reacción y se obtienen valores falsamente bajos. En estos casos es adecuado un control de plausibilidad de los resultados de medición mediante dilución de la muestra (1:10, 1:100).

### 8. Aseguramiento analítico de la calidad

se recomienda antes de cada serie de mediciones

Para comprobar el sistema fotométrico de medición (reactivos del test, dispositivo de medición, manipulación) y el modo de trabajo puede usarse una solución patrón de fenol recién preparada con 1,25 mg/l de fenol (aplicación, ver sitio web).

Mediante adición de patrón se pueden determinar las interferencias dependientes de la muestra (efectos de matriz).

Notas adicionales, ver bajo [www.ga-test-kits.com](http://www.ga-test-kits.com).

Certificados de calidad y lote para Kits de test de Spectroquant®, véase el sitio web. Allí se indican todos los datos del control de producción que se han obtenido según ISO 9466-1 y DIN 38402 A51.

### 9. Notas

- Cerrar de nuevo inmediatamente los frascos tras la toma de los reactivos.
- Podrá pedirse información sobre los procedimientos de eliminación en [www.disposal-test-kits.com](http://www.disposal-test-kits.com).

Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany,  
Tel. +49(0)6151 72-2440  
[www.analytical-test-kits.com](http://www.analytical-test-kits.com)

EMD Millipore Corporation, 400 Summit Drive  
Burlington MA 01803, USA, Tel. +1-978-715-4321

