

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA
FACULTAD DE INGENIERÍA
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL



“Determinación del contenido total de polifenoles en la pepa de palta Hass (*Persea Americana*) y su aplicación en pulpa y aceite de palta como antioxidante natural”

TESIS
PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
INGENIERO AGROINDUSTRIAL

INVESTIGADOR:

Est. Mori Arismendi Krizia Sigry

ASESORA:

Dra. Luz María PAUCAR MENACHO

Nuevo Chimbote - Perú 2018

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA

Facultad de Ingeniería

Escuela Académico Profesional Ingeniería Agroindustrial



HOJA DE ALVA DEL JURADO EVALUADOR

El presente trabajo de tesis titulado “**Determinación del contenido total de polifenoles en la pepa de palta Hass (Persea Americana) y su aplicación en pulpa y aceite de palta como antioxidante natural**”, para obtener el título profesional del ingeniero Agroindustrial, presentado por el batch. MORI ARISMENDI KRIZIA SIGRY, teniendo como asesor a la docente Dr. LUZ PAUCAR MENACH, designado por resolución decanal N° 851-2015-UNS-FI. Ha sido revisado y aprobado el día 23 de mayo del 2018 por el siguiente jurado evaluador, designado mediante resolución N° 122-2018-UNS-CFI.

.....
Dr. Victor Castro Zavaleta

Presidente

.....
Dra. Luz Paucar Menacho

Secretario (asesor)

.....
Dr. Cesar Moreno Rojo

Integrante

ACTA DE SUSTENTACION DE TESIS

Siendo las once horas del veintitrés de mayo del dos mil dieciocho se instaló en el Auditorio de la Escuela Académica Profesional de Ingeniería Agroindustrial, el jurado evaluador, designado mediante resolución N° 122-2018-UNS-CFI, integrado por los docentes:

- Dr. Víctor Castro Zavaleta (presidente)
- Dra. Luz Paucar Menacho (secretario)
- Dr. Cesar Moreno Rojo (integrante); para inicio a la sustentación y evaluación de tesis, titulada.

“Determinación del contenido total de polifenoles en la pepa de palta Hass (Persea Americana) y su aplicación en pulpa y aceite de palta como antioxidante natural”,

Elaborada por el Bachiller en Ingeniería Agroindustrial.

- Mori Arismendi Krizia Sigry

Asimismo tiene como asesora la docente: Dra. Luz Paucar Menacho. Finalizada la sustentación, la tesista respondió las preguntas formuladas por los miembros del jurado y el público presente.

El jurado después de deliberar sobre aspectos relacionados con el trabajo, contenido y sustentación del mismo, y con las sugerencias pertinentes y en concordancia con el Artículo 39° y 40° del Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad Nacional del Santa, declaran:

BACHILLER	PROMEDIO VIGESIMAL	PONDERACION
MORI ARISMENDI KRIZIA	19	EXCELENTE

Siendo las doce y treinta se dio por terminada dicha sustentación, firmando en señal de conformidad del presente jurado.

2018.

Nuevo Chimbote, 23 de mayo del

.....
Dr. Víctor Castro Zavaleta
Presidente

.....
Dra. Luz Paucar Menacho
Secretario (asesor)

.....
Dr. Cesar Moreno Rojo
Integrante

DEDICATORIA

Dedico de manera especial este trabajo de investigacion a mis padres angela y walter quienes inspiraron mis pasos para cristalizar mi desarrollo profesional, a mi madre quien en ella tengo el espejo en el cual me quiero reflejar pues sus virtudes infinitas y su gran corazon me llevan a admirarla cada dia mas. Asi mismo a mi asesora pues ella sento mis bases de responsabilidad y deseo de superacion.

Gracias a Dios por concederme la oportunidad de seguir adelante a pesar de todos los obtaculos dados.

A mis compañeros quienes son personas que me han ofrecido su apoyo y amor incondicional, la cual agradezco de corazon.

AGRADECIMIENTO

Quiero dar mi más sincero agradecimiento a la universidad Nacional del Santa (UNS), por ser la casa de estudio que me recibió e hizo posible alcanzar una de mis metas más anheladas.

A mi asesora Dra. Luz Paucar Menacho por sus invaluable y oportunos consejos y al interés en el desarrollo de mi propuesta.

A los miembros del Jurado, Ing. Victor Castro Zavaleta y al Ing. Moreno Rojo por sus valiosas observaciones.

Al instituto de investigación agroindustrial (IITA), por permitirme desarrollar mi trabajo de grado en sus instalaciones, a todos los compañeros que allí laboran, gracias por su apoyo para el desarrollo de esta investigación.

A mi pareja por sus interminables esfuerzos por ayudarme a realizar este proyecto y sus innumerables consejos de apoyo y superación.

INDICE

	Pág.
DEDICATORIA.....	4
AGRADECIMIENTO.....	5
INDICE.....	6
RESUMEN	12
CAPITULO I.....	14
INTRODUCCION.....	14
1.1. Situación Problemática	14
1.2. Formulación del Problema.....	15
1.3. Justificación.....	15
1.4. Objetivos.....	16
1.4.1. Objetivo General:	16
1.4.2. Objetivos Específicos:	16
CAPITULO II.....	17
MARCO TEORICO.....	17
2.1. Antecedentes del problema	17
2.2. Bases Teóricas	18
2.2.1. La Palta Hass.....	18
2.2.2. Razas de Palta (genoma).....	19
2.2.3. Taxonomía y nombre científico.....	20
2.2.4. Descripción Morfológica y Ecográfica de la planta.....	21
2.2.5. Composición química de la semilla de palta	23
2.2.6. Características de la semilla palta Hass	24
2.2.7. Estructura de la semilla.....	24
2.2.8. Usos Tradicionales de la Semilla	26
2.2.9. Actividad antioxidante	¡Error! Marcador no definido.
2.2.10. Las propiedades medicinales de la semilla de palta.....	27
2.2.11. Análisis proximal.....	28
2.3. Antioxidante natural	28
2.3.1. Efecto antioxidante.-	28
2.3.2. Proceso oxidativo.-	29
2.3.3. Antioxidantes Naturales.-.....	30
2.3.4. Métodos de obtención para extractos vegetales con poder antioxidante	37

2.4. Producción y exportación de la palta.....	38
2.4.1 Demanda del producto	39
2.4.2 Oferta del producto.....	40
2.4.3 Precio.....	41
CAPITULO III.....	45
DISEÑO METODOLOGICO.....	45
3.1. Tipo y Diseño de investigación.....	45
3.1.1. Lugar de ejecución	45
3.1.2. Tipo de investigación.....	45
3.1.3. Materiales e Instrumentación	45
3.1.4. Diseño De La Investigación.....	48
3.1.5. Unidad de análisis	48
3.1.6. Población de estudio.....	49
3.1.7. Muestra.....	49
3.2. Técnicas de recolección de datos	49
3.2.1 Recolección y clasificación de los frutos de <i>Persea americana</i> Var. Hass.....	49
3.2.2 Obtención de la harina de semilla de <i>Persea americana</i> Var. Hass.....	49
3.2.3 Análisis químico proximal de la pepa de semilla de <i>Persea americana</i> Var. Hass	50
3.2.4 Obtención del aceite de semilla de <i>Persea americana</i> Var. Hass	50
3.2.5 Análisis fisicoquímico del aceite de semilla de <i>Persea americana</i> Var. Hass..	50
3.2.7 Análisis del perfil de ácidos grasos del aceite de semilla de <i>Persea americana</i> Var. Hass.....	51
3.2.8 Prueba de estabilidad del aceite de semilla de palta mediante Rancimat.....	51
3.2.9 Evaluación de la actividad antioxidante del aceite de semilla de <i>Persea americana</i> . Var. Hass.....	51
3.3. Diseño experimental.....	52
3.4 Análisis e interpretación de datos.....	57
CAPITULO IV	59
RESULTADOS Y DISCUSION.....	59
4.1 Obtención de la harina de semilla de <i>Persea americana</i> Var. Hass.....	59
4.1.1 Deshidratación de las semillas aisladas	59
4.1.2 Obtención de la harina de semilla de palta.....	60
4.2 Análisis químico proximal de la harina de semilla de <i>Persea americana</i> Var. Hass	61

4.3	Análisis fisicoquímico de la harina de la semilla de <i>Persea americana</i> Var. Hass	63
4.4	Análisis de rendimiento de la Obtención del aceite de semilla de <i>Persea americana</i> Var. Hass	65
4.5	Análisis del perfil de ácidos grasos del aceite de semilla de <i>Persea americana</i> Var. Hass	69
4.6	Evaluación de la actividad antioxidante y contenido de polifenoles de la semilla de <i>Persea americana</i> Mill. Var. Hass	71
4.6.1	Evaluación de la actividad antioxidante del aceite en función a la captación del radical ABTS (2,2' Azinobis (3 etilbenzotiazolinaácido sulfónico).	71
4.6.2	Evaluación del contenido de polifenoles en la semilla de palta Hass.	73
4.7	Aplicación de la semilla de palta Has como antioxidante natural en la pulpa y aceite de palta.	75
4.7.1	Prueba de estabilidad del aceite de semilla de <i>Persea americana</i> Var. Hass.	75
4.7.2	Determinación de color en la pulpa de palta de <i>Persea americana</i> Var. Hass	77
CAPITULO VI		81
CONCLUSIONES		81
CAPITULO VII		82
RECOMENDACIONES		82
CAPITULO VIII		83
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS		83
ANEXO		92

CONTENIDO DE TABLAS

Pág.

Tabla 1: Porcentaje de parentesco (similitud) dentro y entre razas de aguacate y Persea Schiedeana (Hib).	17
Tabla 2: La semilla tiene una composición fitoquímica, estos pueden ser los que funcionan como antioxidante al tener interacción entre ellos.	21
Tabla 3: Análisis proximal de la semilla de aguacate variedad Hass	26
Tabla 4: Alimentos de dieta diaria de alfa-tocoferol	32
Tabla 5: Alimentos fuentes de alfa-caroteno y beta-caroteno	32
Tabla 6: Contenido de polifenoles y taninos en semilla de aguacate (base seca)	36
Tabla 7: Exportaciones chilenas de aceite de palta	38
Tabla 8: Modelo del diseño experimental	55
Tabla 9: Factor y niveles del diseño experimental	56
Tabla 10: Evaluación de las semillas deshidratadas	57
Tabla 11: Evaluación de la harina de semilla de palta	58
Tabla 12: Análisis químico proximal de la semilla de palta (materia prima)	59
Tabla 13: Análisis fisico-químico de la semilla de palta (materia prima)	60
Tabla 14: Rendimiento de la extracción del aceite de semilla de palta (*)	62
Tabla 15: Tabla de Análisis Varianza por Rendimiento para el porcentaje de extracción de aceite de Palta	64
Tabla 16: Tabla de Análisis Varianza por % de extracción por Solvente de aceite de Palta	65
Tabla 17: Composición de Ácidos Grasos del aceite de palta Hass extraído por solvente Hexano y Éter.	66
Tabla 18: Evaluación de la Capacidad antioxidante por la prueba del ABTS de la semilla de Persea americana Mill. Variedad Hass	69
Tabla 19: Contenido de Polifenoles en la semilla de palta Hass.	70
Tabla 20: Evaluación de la estabilidad del aceite de semilla de palta mediante Rancimat a diferentes temperaturas de almacenamiento	72

CONTENIDO DE CUADROS

Pág.

Cuadro 1: Mayores productores de palta a nivel mundial	38
Cuadro 2: Cuadro comparativo de exportación de palta a nivel internacional	39
Cuadro 3: Cuadro comparativo entre empresas peruanas agroexportadoras de palta Hass.	40
Cuadro 4: Grupo de flavooides dietarios (LAOX-INTA) y sus fuentes	37

CONTENIDO DE ILUSTRACIONES

Pág.

Ilustración 1: Partes de la semilla de Aguacate	24
Ilustración 2: Semilla de aguacate (cv. Hass). (a) Cubierta seminal, (b) cotiledones, (c) eje embrionario.	23
Ilustración 3: Microscopía óptica del cotiledón de semilla de aguacate cv. Hass sin extraer.(a) Gránulos de almidón, (b) glóbulos de grasa.	23
Ilustración 4: Microscopía óptica del eje embrionario de semilla de aguacate cv. Hass. Sin tratamiento de extracción. (a) Gránulos de almidón, (b) glóbulos de grasa.	24
Ilustración 5: Recepción de Materia Prima (Palta Hass)	50
Ilustración 6: Selección de Materia Prima	51
Ilustración 7: Lavado y Desinfectado	51
Ilustración 8: Cortado y Despepado	52
Ilustración 9: Desinfección de las pepas	52
Ilustración 10: Laminado en Rodajadura	52
Ilustración 11: Secado de la Pepa de Palta	53
Ilustración 12: Pepa de Palta seca molida.	53
Ilustración 13: Extractor de Aceites y Grasas	54

CONTENIDO DE GRÁFICOS

Pág.

GRAFICA 1: Produccion de palta Hass a nivel Nacional	37
GRAFICA 2: Acido Ascórbico (Vitamina C)	29
GRAFICA 3: Cadena de alfa-tocoferol	31
GRAFICA 4: Cadena de No-flavonoides	34
GRAFICA 5: Quercetina	35
GRAFICA 6: Comparación del %Rendimiento obtenido de la semilla de palta en función de la extracción para los diversos tratamientos.	63
GRAFICA 7: Grafico de ANOVA para el análisis de rendimiento en Aceite de la semilla de Palta var. Hass	64
GRAFICA 8: Grafico de Caja y Bigote para el análisis de rendimiento por SOLVENTE en Aceite de la semilla de Palta var. Hass	65
GRAFICA 9: Composición de ácidos grasos en la semilla de palta Hass en Base seca	67
GRAFICA 10: Estimación de vida útil del aceite a 25°C - Control	39
GRAFICA 11: Grafica de la tendencia de LUMINOSIDAD de acuerdo a los días de evaluación.	76
GRAFICA 12: Grafica de Índice de Cromaticidad	77

RESUMEN

La comercialización de palta se ha incrementado en 50% y aproximadamente el 3% de la producción de palta es industrializado para su exportación en forma de pasta. Si la semilla representa aproximadamente el 15% en peso del fruto (Ramos, 1999), entonces la industrialización actual resultan más de 3,000 t de semilla anualmente, las mismas que son desechadas sin aprovechamiento alguno. La composición de la pepa de palta en estado de madurez es similar a una de calidad de exportación; la pepa de palta posee un contenido de fenoles alto (6.14 mg/100g semilla) y es adecuada para la determinación de polifenoles de semilla de palta, es por ello que el objetivo de este trabajo es determinar el contenido de polifenoles en la pepa de palta Hass (*Persea Americana*) y aplicarlo en la pulpa y aceite de palta como un antioxidante natural. Al aceite obtenido por el método de Soxhlet se le caracterizó mediante el análisis de las propiedades físico químicas siguiendo las normas AOCS (Sociedad Americana de la Química del Aceite), el análisis químico de contenido de polifenoles así como su capacidad antioxidante y el perfil ácidos grasos mediante el método cromatográfico de gases. Los resultados de este trabajo de investigación para el análisis proximal reportaron valores promedios de $2,65 \pm 0.17$ en lípidos; $3,66 \pm 0.17$ en proteínas; $3,05 \pm 0.10$ en fibra y $40,73 \pm 1.85$ en carbohidratos. Por otro lado la caracterización físicoquímica reportó valores promedios de $1,59 \pm 0.19$; $1,40 \pm 0.07$; $0,17 \pm 0.05$; $1,39 \pm 0.01$ para °Brix, Índice de refracción, % acidez e índice de peróxidos respectivamente. El perfil de ácidos grasos permitió identificar dos ácidos grasos esenciales: ácido Linolèico (48,76%) y ácido Linolènico (12,17%), omega-6 y omega-3, respectivamente. Finalmente, se determinó la actividad antioxidante mediante el método de ABTS (2,2' Azinobis (3 etilbenzotiazolinaácido sulfónico) encontrándose 25,565 μmol de Trolox equivalente/kg. Mientras que un contenido total de polifenoles de 182,595 mg Ac.Gálico/100 g. de muestra, el cual no representa variación significativa al ser aplicado como antioxidante natural en la pulpa y aceite de la palta Hass.

Este trabajo será fue desarrollado por la estudiante Mori Arismendi Krizia Sigry, asesorada por la Dra. Luz Maria Paucar Menacho.

Palabras claves: *Persea americana*, Ácidos grasos, Polifenoles, Actividad antioxidante.

ABSTRACT

Avocado marketing has increased by 50% and about 3% of the industrialized avocado production is for export in the form of paste or guacamole. If the seed is about 15% by weight of fruit (Ramos, 1999), the current has to industrialization are more than 3,000 t seed annually same that are discarded without utilization. The composition of the nugget at maturity is similar to an export quality if the pit avocado has a high content of phenols (6.14 mg / 100g seed) is suitable for the determination of avocado seed polyphenols. **OBJECTIVE.** Determine the polyphenol content in the pit of Hass avocado (*Persea Americana*) and apply the pulp and avocado oil as a natural antioxidant. **METHODOLOGY.** Oil obtained by the method of Soxhlet it was characterized by analyzing the physical and chemical properties according to the AOCS (American Society of Chemistry Oil) standards, chemical analysis of polyphenol content such as total phenols and total flavonoids and profile fatty acids by gas chromatographic method. **RESULT.** The proximal analysis reported mean values of 2.65 ± 0.17 in lipids; 3.66 ± 0.17 in proteins; 3.05 ± 0.10 in fiber and 40.73 ± 1.85 in carbohydrates. On the other hand, physicochemical characterization reported average values of 1.59 ± 0.19 ; 1.40 ± 0.07 ; 0.17 ± 0.05 ; 1.39 ± 0.01 for °Brix, Refractive index, % acidity and peroxides index respectively. The fatty acid profile allowed the identification of two essential fatty acids: Linoleic acid (48.76%) and Linoleic acid (12.17%), omega-6 and omega-3, respectively. Finally, the antioxidant activity was determined by the ABTS method (2,2 'Azinobis (3-ethylbenzthiazoline-sulphonic acid), where 25,565 μmol of Trolox equivalent / kg was found, while a total polyphenol content of 182,595 mg Ac.Galico / 100 g; which does not represent significant variation when applied as a natural antioxidant in the pulp and oil of the Hass avocado.

The student Krizia Sigry Mori Arismendi, assisted by Dra, will develop this work. Luz Maria Paucar Menacho.

Keywords: *Persea Americana*, fatty acids, polyphenols, antioxidant activity.

CAPITULO I

INTRODUCCION

1.1.Situación Problemática

En las distintas actividades humanas, tanto domésticas como industriales, existe generación de diversos residuos que, a causa del volumen alcanzado y eventual peligrosidad, deben ser manejados adecuadamente con el fin de minimizar su impacto ambiental. Los residuos agroindustriales, a pesar de que no tienen carácter peligroso, pueden provocar problemas medioambientales importantes si no son dispuestos correctamente.

Aproximadamente el 3% de la producción de palta es industrializado para su exportación en forma de pasta o guacamole. Si la semilla representa aproximadamente el 15% en peso del fruto (Ramos, 1999), se tiene que de la industrialización actual resultan más de 3,000 TN de semilla anualmente, mismas que son desechadas sin aprovechamiento alguno. Una vez separada la pulpa comestible, quedan como residuos la cáscara y la semilla. La semilla posee menos lípidos que la pulpa, por lo cual no se les considera de interés en un proceso como la obtención de aceite, sin embargo (Rengifo, 2014) encontraron que los ácidos grasos presentes en la semilla presentan mayor cantidad de ácidos poliinsaturados que la pulpa.

A la semilla del aguacate o palta se le atribuyen algunas propiedades de tipo farmacológicas y debido a la presencia de ácidos grasos (Werman y Neeman, 1986), compuestos polifenólicos estos pueden ser los que funcionan como antioxidante al tener interacción entre ellos (Arukwe et al. 2012), además de esteroides y ha sido usada desde épocas precolombinas contra padecimientos tales como dolores musculares, parásitos y micosis (Cabrera, 1996; Argueta et al., 1994).

En el área andina se cultivan diversas frutas y hortalizas, entre las que se encuentra la palta, que se consume principalmente en forma natural sin mayor grado de procesamiento; no existe tampoco mucha información sobre su composición química. La revalorización de estas frutas como de sus residuos o desechos vegetales, son poco conocidas o desconocidas fuera de sus regiones de origen, la que sería de gran beneficio para el poblador rural del interior del Perú que se encuentra entre los grupos poblacionales más pobres de Latinoamérica.

Por tanto, la caracterización de los residuos es imprescindible no sólo con el fin de determinar la metodología apropiada para su disposición final, sino también para su evaluación como potenciales materias primas en otros procesos de producción. De este modo, es posible obtener productos a partir de residuos, aumentando la rentabilidad global del proceso productivo, contribuyendo así a la sostenibilidad de la actividad industrial y al mismo tiempo reduciendo sensiblemente el impacto medioambiental. Es por ello que el objetivo de este trabajo es determinar el contenido de polifenoles en la pepa de palta Hass (*Persea Americana*) y aplicarlo en la pulpa y aceite de palta como un antioxidante natural.

1.2. Formulación del Problema

Teniendo en cuenta la importancia de lo anteriormente mencionado surge la siguiente problemática: ¿Qué cantidad de polifenoles se encuentran con propiedades antioxidativas en el extracto de la pepa de palta Hass (*Persea Americana*) que pueda dar valor agregado a alimentos para ser explotado agroindustrialmente?

1.3. Justificación

Los antioxidantes son sustancias que cuando están presentes en los alimentos o en el cuerpo a concentraciones bajas comparadas con las de un sustrato oxidable, retardan o previenen la oxidación de dicho sustrato. Los antioxidantes han sido utilizados para prevenir el deterioro de la calidad de los productos y mantener su valor nutricional. La ingesta de antioxidantes en la dieta cotidiana ayuda al cuerpo a protegerse contra el daño causado por las especies de oxígeno reactivo y las enfermedades crónico-degenerativas (Rengifo, 2014)

En la actualidad los antioxidantes actúan a diferentes niveles de la secuencia oxidativa de las moléculas lipídicas, disminuyendo así la concentración del oxígeno (interceptando oxígeno singlete, el cual no es un radical sino una especie activada. Por ello no reacciona con los alcanos, pero sí con ciertos alquenos dando reacciones de adición concertada. Los efectos dañinos de la luz solar sobre muchos materiales orgánicos (polímeros, etc) a menudo se atribuyen a los efectos del oxígeno singlete), previniendo la reacción de iniciación por un radical hidroxilo; secuestrar metales y degradar los productos de oxidación primarios a compuestos estables. (Naczki, M y Shahidi, F, 2006).

Los antioxidantes naturales se encuentran en prácticamente todas las plantas, microorganismos, hongos e incluso los animales. La mayoría son compuestos fenólicos, entre los cuales los grupos principales son los tocoferoles, los flavonoides y los ácidos fenólicos. Cada una de estas dos familias está formada cuatro isómeros (α , β , γ y δ), haciendo un total de ocho isómeros del tocoferol. (Frankel E, 1996)

El conocimiento de la composición química tanto del cotiledón de la semilla como del aceite de semilla de palta y especialmente la determinación de su poder antioxidante puede permitir la utilización de la semilla de palta y el aceite de la misma como materia prima por las industrias alimentarias, cosméticas y farmacéuticas para el diseño y producción de alimentos nutraceuticos, cosméticos y suplementos nutricionales en bienestar del estado nutricional y la salud de algunos grupos de nuestra población. (Olaeta J. et al., 2012)

1.4.Objetivos

En el presente trabajo de investigación se han planteado los siguientes objetivos:

1.4.1. Objetivo General:

Determinar el contenido de polifenoles en la pepa de palta Hass (*Persea Americana*) y aplicarlo en la pulpa y aceite de palta como un antioxidante natural.

1.4.2. Objetivos Específicos:

- Obtener extractos a partir de los residuos de pepa de la palta variedad Hass mediante la extracción etanólica.
- Caracterizar las propiedades fisicoquímicas y los principales constituyentes químicos del aceite de pepa de *Persea americana*.
- Analizar las propiedades antioxidantes del extracto obtenido a partir de la pepa de *Persea americana* mediante método de ABTS.
- Evaluar la pulpa y aceite de palta después de agregado la semilla como un antioxidante natural.

CAPITULO II

MARCO TEORICO

2.1. Antecedentes del problema

En el marco del proceso de Investigación que se realizó, se tienen proyectos de investigación en extractos semillas como aceites esenciales y caracterizaciones del poder antioxidante de aguacate variedad Hass.

Específicamente en la temática de antioxidante se han realizado los siguientes trabajos de investigación:

Un estudio denominado “Caracterización del aceite de la semilla de palta *Persea americana* Mill. Var. Hass fuerte y medición de su actividad antioxidante” Objetivos. Caracterizar al aceite de los cotiledones de la semilla de *Persea americana* Mill. Var. Hass y medir su actividad antioxidante total y de las fracciones saponificable y no saponificable. Metodología. Al aceite obtenido por el método de Soxhlet se le caracterizó mediante el análisis de las propiedades físico químicas siguiendo las normas AOCS (Sociedad Americana de la Química del Aceite) y el análisis químico de contenido de fitoconstituyentes a través de un tamizaje fitoquímico y el perfil ácidos grasos mediante el método cromatográfico de gases. (Gonzalo P, 2014)

Otro estudio realizó “Evaluación antioxidante y antimicrobiana en extracto de residuo de aguacate” donde el Objetivo fue analizar las propiedades antioxidantes de los extractos de cáscara y semilla de aguacate con el fin de aprovechar estos residuos. Se realizaron extracciones metanólica y acetónica de cáscara y semilla de aguacate pulverizadas en forma fresca, cada extracto se concentró al 20% en volumen con rotavapor y baño María para ser conservados en congelación hasta su uso. Los extractos obtenidos fueron evaluados para determinar su capacidad antioxidante, fenoles, flavonoides, clorofilas y carotenoides totales. Los resultados obtenidos nos muestran que para determinar la capacidad antioxidante resultó más eficiente la extracción polifenólica. En las pruebas fitoquímicas se obtuvo información relevante sobre la composición de los residuos de aguacate y con respecto a la capacidad antimicrobiana se observó mayor actividad en extractos de semilla. (Chavez P, 2011)

(Matsusaka Y. *et al.* 2003, Yean-Yean S. 2004, Asaolu, 2010) evaluaron la actividad antioxidante (AOA) y encontraron una actividad antioxidante importante en el extracto

de metanólico (MeOH) de las semillas de *Persea americana*. Además, (Rodríguez-Carpena, *et al.* 2011) han reportado actividad antioxidante en extracto al 100% de acetato de etilo (EtOAc), extracto en 70% de acetona y en 70% de metanol (MeOH) de la piel, pulpa y semilla de *Persea americana*.

En Chile una investigación en el año 2007 de (Oleata *et al.*) En el presente estudio se desarrolló, con semilla del cv Hass, un producto extruído, posible de ser consumido como “snack”. Para ello, a paltas maduras con más de 11% de aceite se les extrajo la semilla y ésta se secó y se molió. A esta semilla molida se le determinó porcentaje de humedad, sólidos, lípidos, proteínas, cenizas, fibra, carbohidratos y calorías 100 g-1. Luego la muestra seca fue dividida en dos partes. La primera fue mezclada con maíz molido, en proporción de 40-60% (palta-maíz) y la segunda, testigo, no fue mezclada. Ambos tratamientos fueron sometidos a un extrusor Wenger X20 de tornillo, donde se obtuvo un producto extruído, el cual fue comparado con un snack comercial.

En México se investigó el estudio de las propiedades de la semilla de aguacate (*Persea americana*) variedad hass, para el aprovechamiento integral del fruto donde el análisis fitoquímico de la semilla de aguacate mostró presencia de taninos y azúcares reductores. La dosis letal media (DL50) tuvo un valor mayor a 2000 mg/kg, lo que corresponde a un producto ligeramente tóxico. También se realizó un estudio en ratones en el cual se demuestra que hay una disminución del 55 % de movilidad espermática, por lo que se podría utilizar la semilla de aguacate como un anticonceptivo natural para varones a corto plazo.

2.2. Bases Teóricas

2.2.1. La Palta Hass

El aguacate (*Persea americana*) es uno de los cultivos más importantes en México, ya que es el principal productor a nivel mundial, además es un cultivo que genera más de 100 mil empleos directos e indirectos y permite una entrada importante de divisas por la exportación de su fruta. Por otra parte, nuestro país forma parte del centro de origen de la especie, por lo que alberga una amplia diversidad genética (FAOSTAT, 2005).

Conocido popularmente como aguacate, aguacate oloroso, aguacate zihene o aguacatillo, es un árbol grande o de tamaño mediano, frecuentemente de 20 m de

alto, con una copa muy densa en donde se encuentra su fruto que tiene forma ovalada o esférica, es una drupa de color verdoso y piel fina o gruesa, según la especie a la que pertenezca; cuando está maduro la pulpa tiene una consistencia mantequillosa y de sabor agradable (Gupta, 2005; Ocampo, 2009).

2.2.2. Razas de Palta (genoma)

Se reconocen tres razas de palta; mexicana, guatemalteca y antillana. La clasificación botánica de estas tres razas ha sido modificada, algunos indican a la raza Mexicana como una especie por separado. Sin embargo, actualmente se consideran las tres razas dentro de la especie *Persea americana* Mill. (Bergh *et al.* 1989) hicieron una clasificación muy acertada de las razas de aguacate, agrupando a la raza mexicana como la variedad botánica *Drymifolia* (*Persea americana* var. *drymifolia*), la raza guatemalteca como Var. *Guatemalensis* (*Persea americana* var. *guatemalensis*) y a la raza antillana como Var. *Americana* (*Persea americana* var. *americana*). Por otra parte (Bergh *et al.* 1989) concluyeron que las tres razas de aguacate son genéticamente equidistantes. Dicha conclusión fue corroborada con análisis de marcadores genéticos de ADN. Tabla 1.

Tabla 1: Porcentaje de parentesco (similitud) dentro y entre razas de aguacate y *Persea Schiedeana* (Hib).

	Raza Mexicana	Raza Antillana	Raza Guatemalteca	Costaricense Persea	<i>Persea schiedeana</i>
Raza Mexicana	75.4 +/- 5.6	52.7 +/- 4.1	57.5 +/- 4.6	58.6 +/- 2.3	27.0 +/- 1.6
Raza Antillana		71.1 +/- 5.2	58.1 +/- 5.4	58.4 +/- 5.4	22.8 +/- 0.8
Raza Guatemalteca			73.2 +/- 6.0	59.2 +/- 4.7	24.3 +/- 2.1
Costaricense Persea					27.0

Nota: Valores basados en análisis mediante RAPD (Amplificación al Azar de ADN Genómico).

Fuente: Barrientos-Priego, et al. 1998

La raza antillana se adapta a clima tropical y como porta injerto es más tolerante a la salinidad, también tiene un lapso de tiempo de flor a fruto bastante corto, entre otras características. La raza costaricensis se adapta a condiciones subtropicales de Costa Rica y no se conocen caracteres de interés hasta ahora. Observaciones personales de los autores en Costa Rica a nivel de campo, indican que la semilla es redonda como la raza guatemalteca, la piel como la raza antillana y las hojas son medianas a pequeñas similares a las de la raza mexicana pero sin olor a anís.

2.2.3. Taxonomía y nombre científico

DIVISIÓN : MAGNOLIOPHYTA

CLASE : MAGNOLIOPSIDA

SUBCLASE : MAGNOLIIDAE

ORDEN : LAURALES

FAMILIA : LAURACEAE

GÉNERO : *Persea*

ESPECIE : *Persea americana*

NOMBRE VULGAR: "Palta Hass"

Fuente: Montoya H, 2013.

La palabra *palta* es de origen quechua, su uso tiene referencia documental en la obra "Comentarios reales de los incas" de Garcilaso de la Vega publicada en 1605, en referencia a la etnia los paltas, quienes habitaron la actual provincia de Loja (Ecuador).

Actualmente, se conoce frecuentemente como palta a *Persea americana* en los países de Perú, Bolivia, Chile, Argentina y Uruguay.

2.2.4. Descripción Morfológica y Ecográfica de la planta

Descripción morfológica de la palta (*Persea americana* Mill.)

Es un árbol de hasta 20 m. de alto. Las plantas injertadas sin embargo son mucho más pequeñas. El tronco es corto de corteza parda y más o menos rugosa. La copa de árbol es muy frondosa. Las hojas son perennes y de inserción alterna mediante un peciolo de 2 a 5 cm, el haz de color verde intenso y lustroso y de color verde mate y glauco en el envés, donde se destaca la nervadura central. Las hojas son coriáceas, enteras, de borde liso, oblongas (cuando están maduras) o elíptico lanceolada y de color pardo (cuando son tiernas), el limbo mide de 8 a 20 cm de longitud (Mostacero et al., 2011)

Las flores son pequeñas de 5 a 6 mm., con perianto densamente pubescente, de tubo muy corto y 6 tépalos oblongos de medio centímetro, los 3 exteriores más cortos. Tienen 9 estambres fértiles de unos 4 mm., con filamentos pubescentes, organizados en 3 círculos concéntricos. El ovario es ovoide, de 1,5 mm., densamente pubescente, con estilo también pubescente de 2,5 mm terminado por un estigma discoidal algo dilatado. Las flores son verdosas, en panículas compactas y situados comúnmente en los extremos de las ramas terminales. Presenta muchas flores, sin embargo solo algunas de ellas formarán los frutos.

Según (Mostacero et al., 2011), el fruto se ha descrito como “baya gruesa de forma típicamente aperada”, pero en algunas variedades adoptan formas ovoides, e inclusive esférica. La variedad fuerte es la más cultivada alrededor del mundo por su elevada productividad y presenta injertos con polimorfismo en los frutos, que van de elíptica a aperada. El color del fruto, puede variar desde el verde al morado, la superficie externa del epicarpio también puede presentarse desde lisa hasta rugosa. La pulpa de fruto maduro, mesocarpio, es blanda, grasa, y de color verde amarillenta. Contiene una sola semilla de gran tamaño, cubierta de un epispermo (tegumento) papiráceo y carece de endospermo.

Descripción Ecogeográfica

Características edáficas. Habitat. Especie originaria de la parte meridional de México, de donde se difundió por las regiones de América central y meridional, para con la conquista de América distribuirse por toda América del sur y todo el mundo (Mostacero et al., 2011).

Temperatura. En lo que respecta a la temperatura, las variedades tienen un comportamiento diferente de acuerdo con la raza. La raza antillana es poco resistente al frío mientras que las variedades de la raza guatemalteca son más resistentes y las mexicanas, las que presentan mayor tolerancia al frío.

Requerimiento hídrico y radiación solar. En cuanto a precipitación pluvial, se considera que 1200 milímetros anuales bien distribuidos son suficientes. Sequías prolongadas provocan la caída de las hojas, que reduce el rendimiento; el exceso de precipitación durante la floración y fructificación, reduce la producción y provoca caída del fruto. El factor precipitación condiciona las horas luz, por ello, es importante que la zona donde se vaya a establecer el cultivo tenga por lo menos un promedio de 1.500 horas luz/año.

En el Perú, se cultiva en las tres regiones naturales (costa, sierra y selva) y hasta los 2500 metros sobre el nivel del mar, sobre todo en zonas húmedas tropicales y subtropicales; así como en los valles interandinos de los departamentos de Junín, Ayacucho, Arequipa, Cajamarca, La Libertad y Ancash. (Mostacero et al., 2011)

Características climáticas. Biotipo característico de las comunidades antropocéntricas del país.

Características fitogeográficas. Biotipo característico de las comunidades antropocéntricas del país.

Sistematización fitogeográfica. Biotipo característico de las comunidades antropocéntricas del país.

Características fenológicas. Época de floración: todo el año; época de fructificación: todo el año; Formas de propagación: semillas e injertos. Por lo señalado, anteriormente, uno de los principales factores que afectan la producción y calidad de la fruta, sobre todo en condiciones de suelo desfavorables para el desarrollo del palto, es la inadecuada relación entre agua y aire en la zona de la rizósfera. (Rengifo, 2014)

2.2.5. Composición química de la semilla de palta

En México y países centroamericanos acostumbran hacer guacamole (pasta de aguacate, limón, sal y otros condimentos). la semilla se coloca en el centro de la pasta de palta preparada aduciendo que evita la coloración negra causada por la enzima polifenol oxidasa (Bressani 2009) que se encuentra en el carozo de la palta debido a que presentan algunos compuestos que evitan el pardeamiento del fruto (Canto, 1980). La polifenol oxidasa es una enzima que transforma de o-difenol a o-quinonas, estas son muy reactivas con sus sustratos fenoles al tener contactos entre ellos (Falconí 2008).

Tabla 2: La semilla tiene una composición fitoquímica, estos pueden ser los que funcionan como antioxidante al tener interacción entre ellos.

COMPUESTOS	Mg/100g de semilla
Saponinas	19.21
Taninos	0.24
Flavonoides	19
Alcaloides	0.72
Fenoles	6.14

Fuente: Arukwe et al., 2012.

Las semillas contienen una amplia variedad de componentes incluidos ácidos grasos, alcoholes y números de compuestos insaturados con sabor muy amargo. La protocianina, caritina y un alto contenido de carotenoides en la semilla. El aceite de la semilla es abundante en tecoferoles (Grupta M. 1995.)

Unos autores sostienen que la semilla de aguacate posee algunas sustancias químicas (principios biológicamente activos) anti nutricionales como el ácido cianhídrico, glucósidos cianogénicos, polifenoles condensados y algunos taninos, que podrían actuar adversamente sobre la posibilidad de su utilización como aceite comestible de consumo humano. Sin embargo, la mayoría de dichas sustancias son termolábiles, por lo que un tratamiento térmico adecuado (cocción) las destruiría. (Gonzales et al., 2010).

2.2.6. Características de la semilla palta Hass

La semilla de palta es potencial fuente de almidón, debido a su contenido cercano al 30%. Señalando además, que la evaluación microscópica de este elemento reveló que posee características similares a las de maíz, Los rangos de gelatinización y viscosidad son del tipo C (de dilatación restringida), lo cual sugiere su posible uso en alimentos que deben ser calentados a 100 °C, como sopas y salsas. (Chavez P, 2011).

Las semillas de palta contienen una amplia variedad de componentes, incluidos ácidos grasos, alcoholes y un número de compuestos insaturados con un sabor muy amargo. Están presentes la protocianidina, la camitina y un alto contenido de carotenoides. El aceite de la semilla es abundante en tocoferol. (Gupta, 2005).

2.2.7. Estructura de la semilla

El embrión contiene nutrientes de reserva, orgánicos e inorgánicos, localizados alrededor del embrión o en sus mismos tejidos; contiene aproximadamente el 50% del aceite de la semilla y antes de germinar presenta una situación citológica que indica inactividad, esto es la presencia de proteínas y lípidos de reserva (Scagel et al, 1987;

(Esau, 1977).

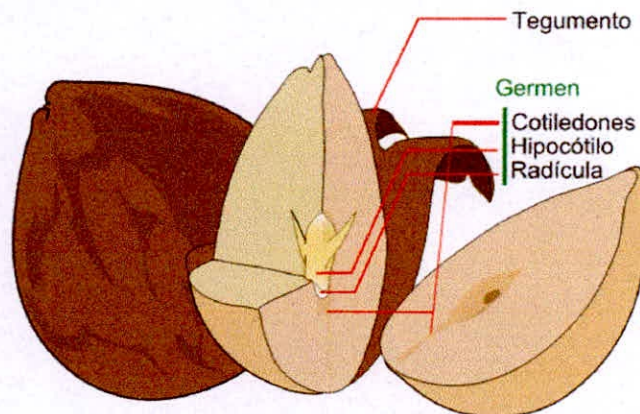


Ilustración 1: Partes de la semilla de Aguacate

La testa madura consiste de epidermis externa, células de taninos y remanentes del xilema cuyos elementos conductores, las traqueidas, pueden contener cantidades considerables de células ricas en azúcares, grasas o proteínas (Fajardo G, 1999).

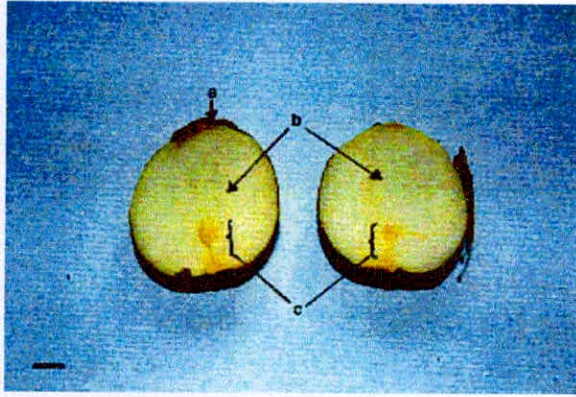


Ilustración 2: Semilla de aguacate (cv. Hass). (a) Cubierta seminal, (b) cotiledones, (c) eje embrionario. Fuente: Fajardo G, 1999.

Cubierta seminal. En las observaciones bajo microscopio compuesto, de los tejidos testigo (sin tratamiento de extracción), se distinguió que la cubierta seminal (Figura 2) consta de algunas células aplanadas tangencialmente que provienen probablemente del endocarpio (a); esclerenquima (b), bajo el cual existen sacos de taninos (c) y por último el parénquima (d).

Cotiledones. En relación a los cotiledones (Ilustración 3), las células del parénquima se observaron llenas de almidón (a) (gránulos de color azul violeta) y unas pocas gotas de grasa (b) (esferas de color ámbar) y probablemente proteínas (cuerpos irregulares de tamaño pequeño en color azul).

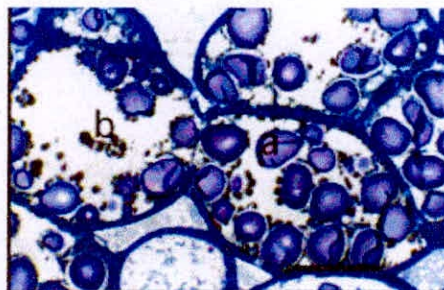


Ilustración 3: Microscopía óptica del cotiledón de semilla de aguacate cv. Hass sin extraer.(a) Gránulos de almidón, (b) glóbulos de grasa. Fuente: Fajardo G, 1999.

Eje embrionario. En el eje embrionario (Ilustración 4) los gránulos de almidón (a) fueron más pequeños (aproximadamente 3 veces) y en menor cantidad que en los cotiledones (gránulos de color azul) pero la grasa (b) (glóbulos de color ámbar) se observó en estructuras más grandes y en mayor cantidad.

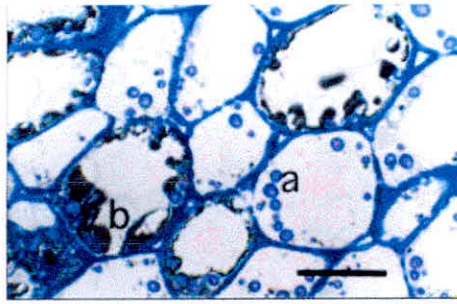


Ilustración 4: Microscopía óptica del eje embrionario de semilla de aguacate cv. Hass. Sin tratamiento de extracción. (a) Gránulos de almidón, (b) glóbulos de grasa. Fuente: Fajardo G, 1999.

2.2.8. Usos Tradicionales de la Semilla

El aceite que se extrae del hueso o semilla se puede aplicar en el cabello para evitar su caída y también en fricciones para aliviar la gota y el reumatismo. (Miller, Philip. 2008)

Los indios americanos han utilizado la semilla para el tratamiento de disentería y diarrea. Hoy en día la fruta es consumida alrededor del mundo y el aceite es un componente de numerosas formulaciones domésticas.

En México, se emplea el aceite extraído de la semilla por comprensión desde siglos para el tratamiento del cabello reseco y otros males del cuero cabelludo; también como ungüento para aliviar el dolor y suavizar la piel de zonas lastimadas. (Chavez P., 2011)

2.2.9. Las propiedades medicinales de la semilla de palta

Según el tratado sobre plantas medicinales del Perú de (Mostacero et al., 2011), el epispermo de la semilla de palta se toma en infusión acuosa por tres días para expulsar parásitos nematodos; los mismos autores refieren que la semilla se utiliza como tónico capilar en la caída del cabello, siendo también muy eficaz en enterocolitis diarreicas; finalmente, refieren que existen estudios que demuestran las propiedades antimicrobianas del extracto acuoso de la semilla contra bacterias Gram positivas y negativas, hongos y micobacterias. (Gonzales et al., 2010) refieren que en años recientes los laboratorios cosméticos han empezado a interesarse en el aceite de palta por su elevado contenido insaponificable, por sus propiedades hidratantes, reestructurantes y antioxidantes y por su especial

capacidad de aumentar la síntesis de colágeno; posee además importantes cualidades de “penetración” y “mantenimiento”, lo que le hace eficaz como vehículo en cremas nutritivas.

Según la medicina tradicional mexicana, la infusión de cáscara de aguacate sería beneficiosa en el tratamiento de parasitosis intestinales (Gupta, 1995).

Rico en aminoácidos: los cuales ayudan a reparar y mantener los músculos del cuerpo saludable y fuerte, es un alimento ideal para el crecimiento en los niños, para deportistas y personas que desean tener músculos firmes y con buen tono. (Garses, 2014)

Reduce los niveles de colesterol. La semilla contiene el 70% de los aminoácidos esenciales. Ayuda a defender al cuerpo de enfermedades cardiovasculares y paros cardiacos. El flavonol, sustancia presente en el hueso de aguacate, previene el crecimiento de tumores o cáncer, los ayuda a reducir o sanar. (Garses, 2014)

2.2.10. Análisis proximal

El análisis proximal realizado a la semilla de aguacate comparado con los obtenidos por (Bressani, 2009) se muestran en la tabla N°3.

Tabla 3: Análisis proximal de la semilla de aguacate variedad Hass

Determinación	Composición (g/100 g)
Humedad	47.8
Ceniza	0.9
Proteína	1.7
Fibra cruda	3.5
Extracto etéreo	2.8

Fuente: Bressani, 2009

2.3. Antioxidante natural

2.3.1. Efecto antioxidante.-

Los radicales libres se encuentran naturalmente en el cuerpo humano como un subproducto del metabolismo y pueden ser generados por los macrófagos como parte del proceso de fagocitosis. También se pueden formar por exposición a radiación, humo del tabaco, ciertos contaminantes, disolventes orgánicos, pesticidas e inclusive durante el ejercicio intenso. Por lo tanto, los antioxidantes, que pueden neutralizar a los radicales libres, pueden ser de vital importancia en la prevención de estas enfermedades (Hernández, 2003).

En la actualidad existe evidencia contundente que indica que los radicales libres causan daño oxidativo a los lípidos, proteínas y ácidos nucleicos (Hernández, 2003).

Los antioxidantes son sustancias que cuando están presentes en los alimentos o el organismo a concentraciones bajas que comparadas con un sustrato oxidable, retardan o previenen la oxidación de dicho sustrato.

2.3.2. Proceso oxidativo.-

El mecanismo de oxidación de los lípidos sigue las siguientes etapas:

Iniciación. El oxígeno existe en dos estados, el estado más estable es el triplete ($3 O_2$), el cual tiene dos electrones sin aparear con el mismo sentido de espín; y el oxígeno singlete ($1 O_2$), que es un estado más excitado y reactivo, con los electrones sin aparear y con sentidos opuestos de espín. La velocidad de reacción de iniciación es lenta. El oxígeno en estado fundamental (triplete), no puede llevar a cabo esta reacción, sin embargo por efecto de la radiación (luz), se puede transformar en singlete.



Propagación. Los radicales alquilo (R^*) formados en el paso de iniciación son reactivos con el oxígeno disponible, formando radicales peroxi (ROO^*) a una velocidad de reacción alta (Ec. 2). El radical peroxi desaparece a una velocidad

lenta formando un hidroperóxido (ROOH), y un nuevo radical libre puede propagar la reacción en cadena (Ec. 3).



Los hidroperóxidos (ROOH) también pueden descomponerse para producir alcoholes, aldehídos, ácidos carboxílicos, cetonas y otras sustancias menos reactivas.

Terminación. Cuando los ácidos grasos poliinsaturados (RH) son consumidos los radicales libres tienden a dimerizarse y la reacción en cadena termina. La terminación completa un ciclo de autoxidación lipídica.

2.3.3. Antioxidantes Naturales.-

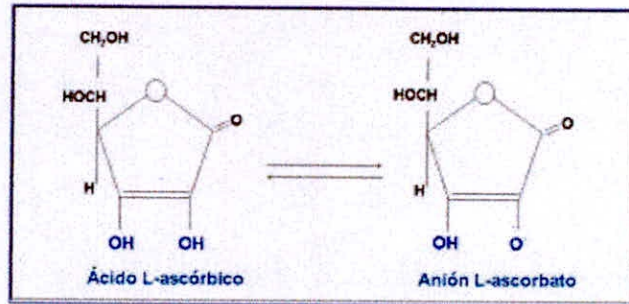
Enfrentados a la interrogante **¿Qué alimento aportaría más antioxidantes al organismo?**, es preciso tener presente las siguientes consideraciones: (i) mientras mayor sea el contenido de antioxidantes (mg /100 g de peso) de un determinado alimento, mayor será el aporte de antioxidantes que la ingesta de dicho alimento suponga al organismo; (ii) para un alimento con un contenido de antioxidantes dado, tendremos que mientras mayor sea la cantidad de alimento ingerido, mayor será la cantidad total de antioxidantes que podrían ingresar al organismo. Entonces, para definir qué alimento podría suponer un mayor aporte de antioxidantes al organismo, será preciso considerar tanto el contenido de antioxidantes presentes en éste, como el tamaño de la porción (g) del alimento que regularmente caracteriza su ingesta. (Yang M et al., 2011)

Los antioxidantes de las fuentes naturales son los preferidos por los consumidores debido a la actual preocupación por los efectos tóxicos y carcinogénicos presentes en los antioxidantes de fuentes sintéticas (Kranl et al., 2005). Además de ser sustancias capaces de prevenir o inhibir el proceso de oxidación en el cuerpo humano, así como en los productos alimenticios. Los polifenoles son el grupo más numeroso de componentes antioxidantes y están presentes en frutas y vegetales, semillas de leguminosas, granos, té, hierbas, especias y vinos. (Rengifo P. 2014)

Los antioxidantes más comunes que se encuentran en los vegetales son las vitaminas C y E, carotenoides, flavonoides y compuestos fenólicos. El ácido ascórbico y los compuestos fenólicos son referentes conocidos de los antioxidantes hidrofílicos, mientras que los carotenoides y vitamina E son referentes conocidos de los antioxidantes lipofílicos (Gutteridge, Halliwell, 2000).

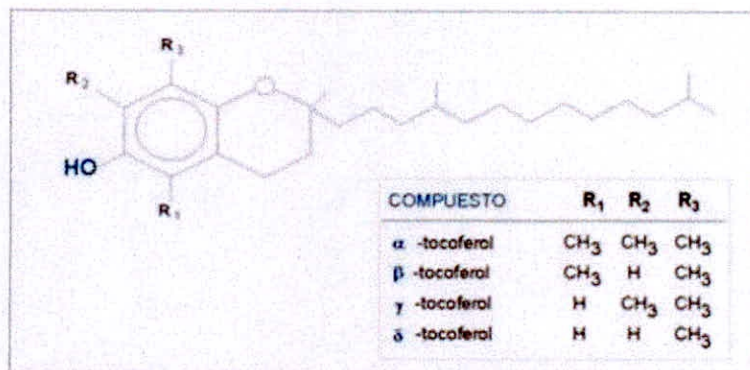
Ácido ascórbico. El ácido ascórbico o Vitamina C (Grafica 1) es un compuesto hidrosoluble que cumple importantes funciones como antioxidante en el organismo. Como tal, tiene el potencial para proteger proteínas, lípidos, carbohidratos y ácidos nucleicos (ADN y ARN) contra el daño oxidativo

causados por diversos radicales libres y especies reactivas. (Gutteridge, Halliwell, 2000).



GRAFICA 1: Ácido Ascórbico (Vitamina C). Fuente: (Rengifo P. 2014)

Vitamina E. El término vitamina E comprende dos tipos de moléculas químicamente muy relacionadas: los tocoferoles y los tocotrienoles. Desde un punto de vista estructural, ambas moléculas incluyen un grupo hidroxilo unido a un C-6 de un anillo aromático el cual está, a su vez, unido a un heterociclo oxigenado. (Chavez P, 2011)



GRAFICA 1: Cadena de alfa-tocoferol. Fuente: (Rengifo P. 2014)

En los alimentos, la concentración de tocoferoles es sustancialmente mayor a la de los tocotrienoles. Dentro de los tocoferoles, el isómero gamma es más abundante que el alfa, a lo menos en la dieta occidental (especialmente en la norte-americana). Sin embargo, los niveles de alfa-tocoferol en la sangre son aproximadamente diez veces mayores que los de gamma-tocoferol. Esto último se debería a que el hígado humano dispone de una proteína de transferencia de tocoferol que no responde a gamma sino solo al isómero alfa, lo que permite el

almacenamiento, incorporación a lipoproteínas y posterior transporte y distribución de éste a otros tejidos. Hasta ahora, la evidencia científica indica que la principal función biológica de la alfa-tocoferol en el ser humano sería la de actuar como antioxidante. (Quiñones M, 2012)

Cuando una molécula de alfa-tocoferol “neutraliza” un radical libre (especialmente del tipo lipoperoxi), sea en un sistema biológico o abiótico, lo hace donando su átomo de hidrógeno fenólico (HAT) a dicho radical. Como resultado de ello la molécula de alfa-tocoferol se convierte en un radical libre llamado tocoferilo, el cual, como es de esperar, carece de actividad antioxidante. (Quiñones M, 2012)

Las principales fuentes de alfa-tocoferol en la dieta occidental incluyen a los aceites vegetales (maravilla, cártamo, oliva), nueces, almendras, y vegetales de hoja verde. Las ocho formas de vitamina E (alfa, beta, gamma y delta de los tocoferoles y tocotrienoles) se encuentran en cantidades variables en los alimentos (Tabla 4). (Namitha KK, 2010)

Tabla 1: Alimentos de dieta diaria de alfa-tocoferol

Alfa-caroteno (mcg)		
Zapallo cocido	1 taza (245 g)	853
Naranja	1 taza (180 g)	20
Mandarina	1 (84 g)	85
Tomate	1 taza (180 g)	182
Zanahorias fresca	1 (72 g)	2.503
Zanahorias cocida	1 taza (156 g)	5.891
Beta-caroteno (mcg)		
Zanahoria fresca	1 (72 g)	5.965
Zanahorias cocidas	1 taza (156 g)	12.998
Zapallo cocido	1 taza (245 g)	5.135
Espinacas, cocidas	1 taza (180 g)	11.318
Espinacas, cruda	1 taza (30 g)	1.688
Camote horneado	1 (146 g)	16.803
Sandía	1 corte (286 g)	867

Fuente: (Namitha KK, 2010)

Carotenoides. Los carotenoides son pigmentos sintetizados por las plantas, donde actúan como “quencheadores” (desactivadores) del oxígeno singlete. Desde un punto de vista estructural, los carotenoides se clasifican en: carotenos, representados por el alfa-caroteno, beta-caroteno y licopeno, y en xantofilas, representadas por el beta-criptoxantina, luteína y zeaxantina. (Schreckinger M. et al, 2010)

Las verduras y hortalizas de color amarillo o naranja, tales como la zanahoria y el zapallo, son una muy buena fuente de alfa y beta-caroteno. Por su parte, la espinaca es también una buena fuente de beta-caroteno, aunque la clorofila enmascara el pigmento amarillo-naranja presente en sus hojas.

Algunos alimentos que son buena fuente de **alfa-caroteno** y **beta-caroteno** son los siguientes (Tabla 5). (Schreckinger M. et al, 2010)

Alimentos	Porción	alfa-tocoferol (mg)
Aceite de oliva	1 cucharada	1,94
Aceite de soja	1 cucharada	1,1
Aceite de maíz	1 cucharada	1,94
Aceite de canola	1 cucharada	2,44
Aceite de cártamo	1 cucharada	4,6
Aceite de girasol	1 cucharada	5,6
Almendras	28.g	7,4
Avellanas	28.g	4,3
Cacahuates	28.g	1,97
Espinaca cruda	½ taza (30.g)	0,61
Zanahoria cruda	1 (72.g)	0,48
Palta o Aguacate	porción de 28.g	0,56-0,75

Tabla 5: Alimentos fuentes de alfa-caroteno y beta-caroteno

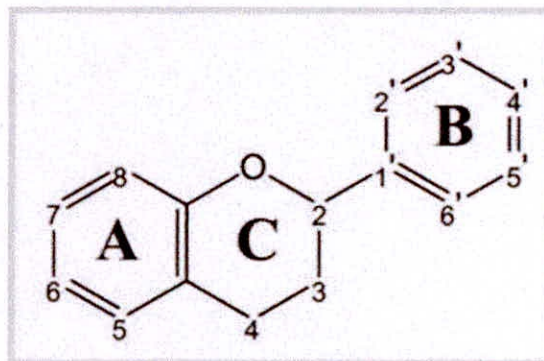
Fuente: (Namitha KK, 2010)

Los Polifenoles. Los polifenoles son compuestos bio-sintetizados por las plantas (sus frutos, hojas, tallos, raíces, semillas u otras partes). Todos los polifenoles exhiben propiedades antioxidantes. Estos compuestos dan cuenta de la mayor parte de la actividad antioxidante que exhiben las frutas, las verduras y ciertas

infusiones y bebidas naturales habitualmente consumidas por la población. (Quiñones M, 2012). Desde un punto de vista químico, todos los polifenoles exhiben en su estructura, a lo menos, uno o más grupos hidroxilos (HO-) unidos a un anillo aromático, es decir, presentan algún grupo fenólico. A su vez, entre los polifenoles es posible distinguir dos subtipos de compuestos:

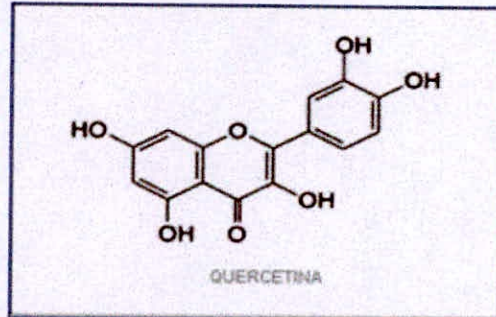
- I) Los **flavonoides**, cuya estructura (difencilpropano, C₆-C₃-C₆, Grafica 3) comprende dos anillos aromáticos (A y B) que se encuentran unidos entre sí por un heterociclo formado por tres átomos de carbono y uno de oxígeno (C), y para los cuales se han descrito más de cinco mil compuestos en el reino vegetal. Como se describe más adelante, a su vez, los flavonoides se subdividen en los siguientes seis grupos de compuestos: antocianidinas, flavanoles, flavanonas, flavonoles, flavonas e isoflavonas. (Capanoglu E. et al., 2011)

- II) Los llamados **no-flavonoides** (algunos cientos), que comprenden, mayormente, alcoholes mono-fenólicos (ej. hidroxitirosol), ácidos fenólicos simples y estilbenos (ej. resveratrol). En el caso de los ácidos fenólicos simples, que constituyen la mayor parte de los polifenoles no-flavonoides, se encuentran los derivados del ácido benzoico (ej. protocatéuico, gálico, vanílico, p-hidroxi-benzóico) y los del ácido cinámico (clorogénico, caféico, ferúlico, p-cumárico). (Capanoglu E. et al., 2011)



GRAFICA 2: Cadena de No-flavonoides.
Fuente: (Capanoglu E. et al., 2011)

La capacidad de los polifenoles para actuar como antioxidantes, tanto la de los flavonoides como de aquellos que no lo son, depende primariamente de la presencia de grupos HO- en su estructura.



GRAFICA 3: *Quercetina. Fuente: (Capanoglu E. et al., 2011)*

¿Es la ingesta de Polifenoles “esencial” para la conservación de la salud?

No existe aún evidencia de que el consumo de polifenoles sea “esencial” para la conservación de la salud, y por ende no existen a la fecha valores de dosis diaria recomendada (RDA) de estos compuestos. Sin embargo, abundante literatura científica da cuenta de diversos beneficios para la salud asociados a un mayor consumo de alimentos ricos en polifenoles, como son ciertas frutas, verduras, legumbres y cereales. Además, crecientemente, la evidencia da cuenta que el consumo de productos ricos en polifenoles, como el cacao (bajo la forma de chocolate negro/amargo), el té verde (en bebidas/jugos que lo contengan) o el vino tinto (en forma moderada) conlleva efectos que serían potencialmente favorables para la conservación y/o la normalización de parámetros fisiológicos relevantes o indicativos de la salud cardiovascular. (Capanoglu E. et al., 2011).

Tabla 2: Contenido de polifenoles y taninos en semilla de aguacate (base seca)

Muestras	Polifenoles Totales (mg Catecol/100 g)	Taninos (mg Acido Tanino/100g)
Variedades		
Hass	602.5 ± 278.51	332.82 ± 61.49
Utz	215.81 ± 46.39	114.25 ± 109.19
Booth 8	506.67 ± 94.80	400.80 ± 103.24
Panchoy	568.44 ± 39.90	414.69 ± 58.15
Shupte	1028.13 ± 173.94	313.08 ± 31.96
Promedio	584.31	315.13
Criollo 1	251.37 ± 12.97	426.78 ± 80.49
Criollo 2	180.62 ± 10.37	145.70 ± 15.92
Criollo 3	129.39 ± 32.86	32.38 ± 24.32
Criollo 4	412.34 ± 118.65	213.39 ± 182.59
Criollo 5	386.14 ± 75.16	212.66 ± 33.79
Criollo 6	623.84 ± 28.14	182.49 ± 35.69
Promedio	312.27	202.22

Fuente: Proyecto FODECYT 02-2006

Cuadro 1: Grupo de flavonoides dietarios (LAOX-INTA) y sus fuentes.

Flavonoides/ Grupo	Compuestos	Principales Fuentes alimentarias
Antocianidinas	Cianidina, delphinidina, malvidina, pelargonidina, peonidina, petunidina.	Los berries de color rojo, azul y púrpura; las uvas rojas y moradas; manzana roja, el vino tinto.
Flavanoles	<i>Monómeros (catequinas):</i> Catequina, epicatequina, epigallocatequina, epicatequingalato, epigallocatequingalato. <i>Dímeros y polímeros:</i> Teaflavinas, tearubiginas, proantocianidinas.	<i>Catequinas:</i> Té verde, cacao, uvas, berries, manzanas. <i>Teaflavinas, tearubiginas:</i> Té negro y Oolong. <i>Proantocianidinas:</i> Cacao, manzanas, berries, uvas rojas, vino tinto.
Flavanonas	Hesperetina, naringenina, eriodictiol.	Frutas cítricas y sus jugos (naranjas, pomelos, limones).
Flavonoles	Quercetina, Quempferol, miricetina, isoramnetina	Cebolla amarilla, cebollin, col rizada, brócoli, manzanas, berries, té.
Flavonas	Apigenina, luteolina	Perejil, tomillo, apio, ají, orégano.
Isoflavonas	Daidzeína, genisteína, gliciteína.	Soja, alimentos de soja, las leguminosas.

Fuente: (Namitha KK, 2010)

2.3.4. Métodos de obtención para extractos vegetales con poder antioxidante

Existe una gran variedad de métodos para la obtención de extractos vegetales, los cuales dependen directamente de la muestra utilizada o del análisis a realizar. En su caso (Wang y otros. 2010), realizaron una extracción polifenólica de aguacate, que consistió en tomar 1 g de muestra de pulpa o 0.5 g de cáscara o semilla para ser extraídas con 10 ml de acetona/agua/ácido acético (70:29.7:0.3, v/v/v) como solvente. Los tubos de extracción fueron vortexados por 30 s y sonicados por 5 min, después fueron centrifugados a 1277 rpm por 10 min. Los sobrenadantes fueron congelados a -20°C para análisis de contenido fenólico, capacidad antioxidante y procianidina.

Medición de la capacidad antioxidante por el método DPPH

Se utiliza el radical α , α - difenil- β -picrilhidrazilo, el cual tiene un comportamiento hidrofílico. La actividad antioxidante del aceite de semilla se mide en μmol de Trolox Equivalentes/kg.

Análisis de la capacidad antioxidante por el método ABTS

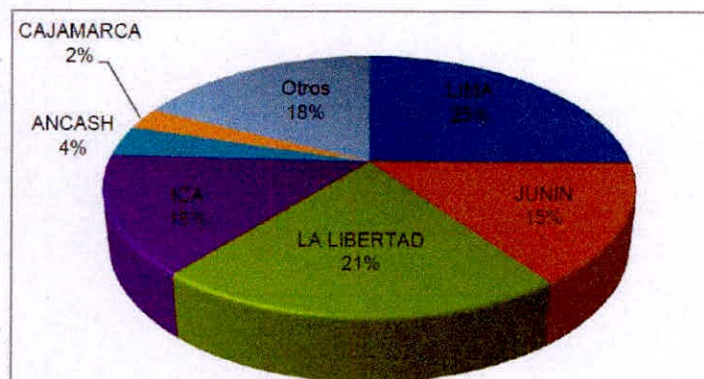
Se utilizó el radical catiónico ABTS (2,2' Azinobis (3 etilbenzotiazolina-ácido sulfónico) el cual tiene un comportamiento lipofílico. La actividad antioxidante del aceite de semilla se mide en μmol de Trolox Equivalentes/kg.

2.4. Producción y exportación de la palta

Actualmente, hay una creciente tendencia en la población a un mayor cuidado respecto a los peligros de las enfermedades cancerígenas, los altos niveles de colesterol y el sobrepeso. Las poblaciones de países como Estados Unidos, Reino Unido y Japón muestran interés por el consumo de productos que favorezcan su salud. Es allí donde se tiene una oportunidad para la propuesta. (Rodríguez, 2012).

Por otro lado, interesa el valor nutricional de los productos consumidos. En estudios realizados respecto a los principales factores que influyen en la compra de productos, el 57% de los encuestados opinó que el valor nutricional es importante en la decisión de compra de productos frescos (FAO, 2001).

En el Perú la producción de palta se ha incrementado a lo largo de los años. Respecto al año 2000 la producción en el 2011 ha crecido en 156%. Entre las principales zonas productoras de palta destacan los departamentos: Lima, La Libertad, Junín e Ica. El gráfico 13 muestra la distribución de la producción del año 2010.



Fuente: MINAG (2012)

GRAFICA 5: Producción de palta Hass a nivel Nacional

Las exportaciones de palta se han incrementado a lo largo de los años al igual que el consumo per cápita el que se estima alrededor de 2 kilogramos por persona.

2.4.1 Demanda del producto

La palta se produce aproximadamente en 46 países. La superficie total cosechada en el mundo alcanzó las 436,3 millones de hectáreas en 2009, siendo, en orden de importancia, México, Chile, Indonesia, Estados Unidos, Colombia, Brasil y República Dominicana los principales productores. Particularmente México es el principal productor, superando el millón de toneladas anuales (1 millón 107 mil treinta y cinco toneladas en 2010), seguido por Chile y República Dominicana. Así mismo, México es considerado el más importante "distribuidor" a nivel mundial, participando con el 51,4% del mercado de exportaciones abasteciendo así a gran parte de la población mundial (Whiley *et al.*, 1988). América concentra el 60% de las plantaciones mundiales. Tan sólo en México, se produce en 28 entidades federativas, siendo Michoacán la más importante de ellas, con 85.9% de la producción total del año 2009. (Comercio, 2017)

A pesar de tradicionalmente no era un producto muy consumido en China, en los últimos tiempos su demanda ha aumentado rápidamente, lo que ha provocado que las exportaciones latinoamericanas hacia el país asiático aumenten a un ritmo del 25% anual, según datos del diario británico Financial Times. (Comercio, 2017)

Cuadro 2: Mayores productores de palta a nivel mundial

1. México	33.9 %
2. República Dominicana	7.4 %
3. Colombia	6.0 %

4. Perú	5.0 %
5. Indonesia	4.7 %
Resto del mundo	43.1 %

Fuente: Agrodata 2016

2.4.2 Oferta del producto

Los principales abastecedores de Europa son Israel, Chile, Perú y Sudáfrica. México exporta a 21 países, principalmente Estados Unidos, Japón, Canadá, América Central y Europa (Noriega, 2013). Sin embargo, a partir de la revisión de estudios de prospección de mercado efectuados por ProChile, se ha podido identificar, de forma precisa, las exportaciones de aceite de palta del país sureño.

Año	Cantidad (t)	Millones US\$
2005	19,021	250,45
2006	18,914	251,28
2007	51,097	539,33
2008	80,048	876,53
2009	54,216	556,91
2010	53,223	564,18

Tabla 7: Exportaciones chilenas de aceite de palta

Fuente: ProChile, 2013

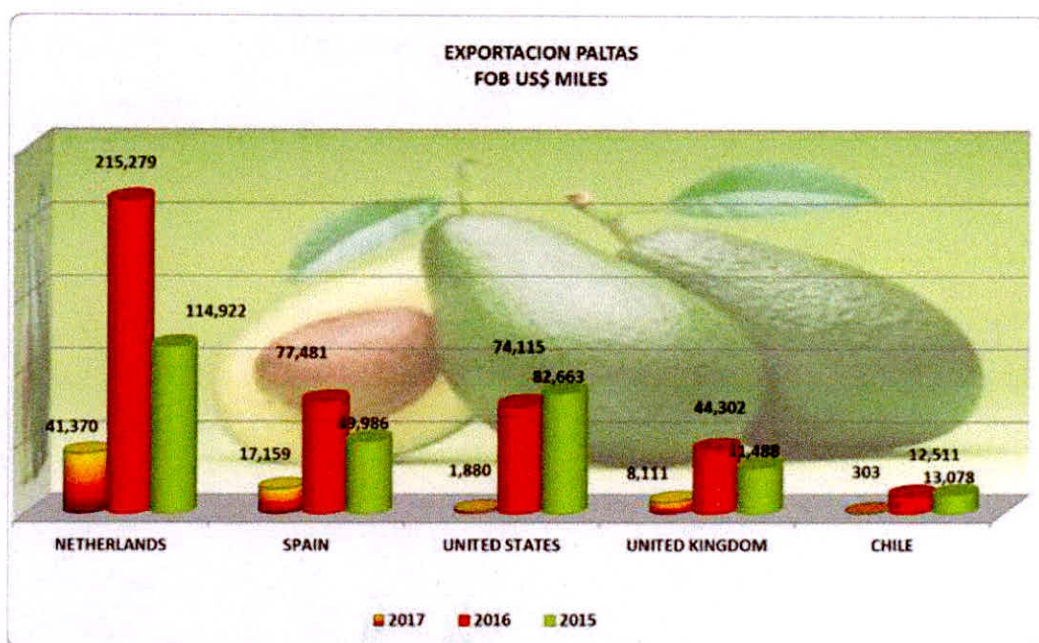
Según las proyecciones por las FAO, la producción mundial de palta en el 2007 fue de 3.4 millones de TN, lo que representó un incremento del 2.4% respecto al año anterior. El principal productor fue México, como ya se mencionó anteriormente, aportando un 33.9% de la producción mundial. Estados Unidos e Indonesia reportaron para el mismo año una producción 0.25 millones de TN cada uno, lo que representó el 7.4% de la producción mundial. (Financiera rural, 2009)

2.4.3 Precio

A Abril la exportación alcanza los US\$ 72.5 millones a un precio promedio de US\$ 2.02 kilo.

Holanda es el principal destino con US\$ 41.3 millones (57% del total), le sigue España con US\$ 17.2 millones (24%).

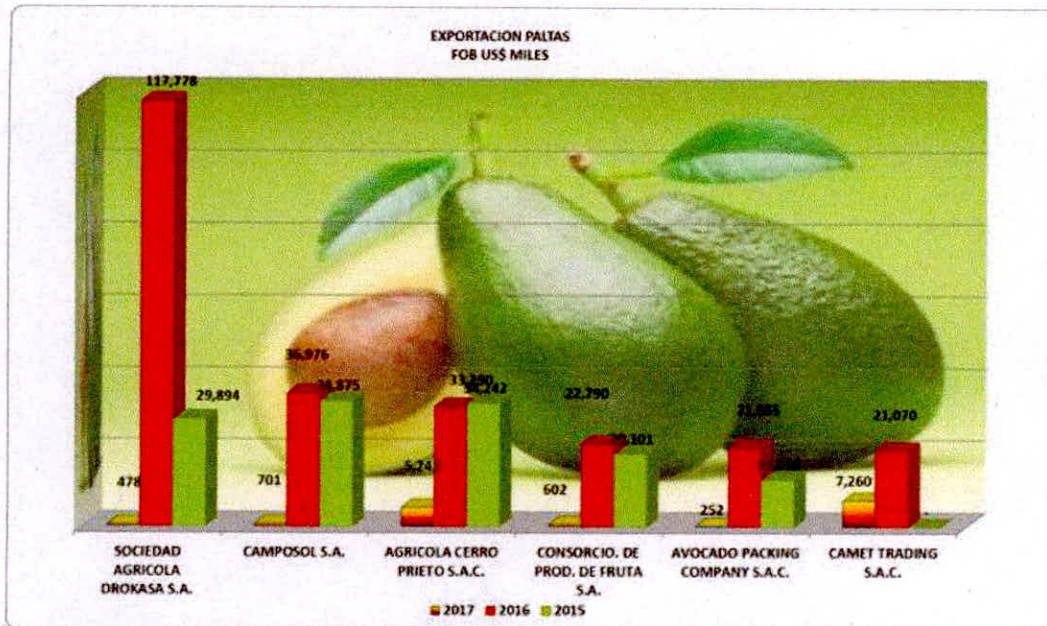
Cuadro 3: Cuadro comparativo de exportación de palta a nivel internacional



Fuente: Agrodata 2017. www.agrodata.com.pe. Acezado el 15.11.17

Los exportadores en el 2017 llegan a los 122, destacando al comenzar la temporada alta Agrícola Cerro Prieto con operaciones por US\$ 5.2 millones.

Cuadro 4: Cuadro comparativo entre empresas peruanas agroexportadoras de palta Hass.



Fuente: Agrodata 2017. www.agrodata.com.pe. Avezado el 15.11.17

A pesar de que tradicionalmente la variedad fuerte era una de las más consumidas en Latinoamérica, la palta hass domina el 95% del mercado mundial. Varias cadenas de restaurantes de comida rápida, de hecho, han tenido que eliminar la **palta** de su oferta ante la incapacidad de repercutir en el precio final el aumento del costo de este producto.

2.5. Marco conceptual

En el presente trabajo se han considerado los siguientes conceptos:

Cotiledones.

Hojas primordiales o embrionarias de las plantas con flores (fanerógamas-angiospermas), cuya función es la reserva de nutrientes para la plántula durante la germinación de la semilla. Las monocotiledóneas presentan sólo una hoja, en cambio las dicotiledóneas tienen dos hojas primordiales (cotiledones).

Aceite de semilla de palta.

Lípido, líquido a temperatura ambiente, extraído de la semilla de la palta. El aceite puede extraer por arrastre de vapor, horno de microondas, expresión en frío, arrastre de fluidos supercríticos (CO₂). Dicese aceite “extra virgen” al que se obtiene por expresión en frío de la semilla, empleándose para tal fin prensas de madera u otro material diatérmico.

Extracción Soxhlet

Consiste en un método de extracción sólido- líquido, que se utiliza generalmente para aislar los componentes lipídicos de una muestra por medio de un solvente.

Anti nutrientes.

Son compuestos naturales o sintéticos que interfieren con la absorción de nutrientes, estudios en el ámbito nutricional, hallaron estos compuestos antinutricionales en alimentos y bebidas, tanto naturales como procesadas e, incluso, en medicamentos.

Actividad antioxidante.

Son sustancias que cuando están presentes en los alimentos o en el organismo a concentraciones bajas comparadas con las de un sustrato oxidable, retardan o previenen la oxidación de dicho sustrato. Los antioxidantes han sido utilizados para prevenir el deterioro de la calidad de los productos y mantener su valor nutricional.

Método del DPPH

(Brand-Williams *et al.*, 1995) evaluaron la actividad de compuestos específicos o extractos usando el radical libre estable (2,2-difenil-1-picrilhidracilo) DPPH• en una solución metanólica. La reducción del DPPH• se monitorea por la disminución en la absorbencia a una longitud de onda característica. En su forma de radical libre, el DPPH• absorbe a 515 nm y cuando sufre reducción por un antioxidante, esta absorción desaparece. En consecuencia, la desaparición del DPPH• proporciona un índice para estimar la capacidad del compuesto de prueba para atrapar radicales

Método del ABTS

El valor de TEAC (6-Hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-ácido carboxílico) se determinó según la técnica seguida por (Arumugam *et al.* 2006), la cual fue probar la capacidad de los extractos para inactivar el radical ABTS: 2,2'azinobis-(3-etilbenzotiazolin 6-ácido sulfónico).

Técnica de Folin-Ciocalteu (FC).

La determinación de fenoles totales no está directamente relacionada con la medición de actividad antioxidante, pero puede ser útil para tales estudios, en especial si se combinan con métodos para medir actividad antioxidante.

Entre los métodos para la medición de fenoles totales se encuentra el de FC, uno de los métodos más antiguos para determinar el contenido de fenoles totales. Esta prueba consiste en mezclar tungstato y molibdato en un medio altamente básico (Na_2CO_3 al 5-10 %, acuoso). Los poli fenoles son fácilmente oxidables en medio básico quienes reaccionan con el molibdato formando óxido de molibdeno, este compuesto puede ser identificado y cuantificado por espectroscopia de UV/VIS debido a que absorbe a una longitud de 750 nm.

CAPITULO III

DISEÑO METODOLOGICO

3.1. Tipo y Diseño de investigación

3.1.1. Lugar de ejecución

La investigación se realizó en el Instituto de Investigación Tecnológica Agroindustrial y el Laboratorio de Composición De Productos Agroindustriales de la Facultad de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Nacional del Santa, la misma que se encuentra ubicada en la avenida universitaria s/n – Bellamar, Provincia del Santa. Además de la Universidad Nacional de Trujillo y los Laboratorios de COLECBI y el laboratorio de calidad total de la UNALM ubicada en Av. La Molina s/n.

3.1.2. Tipo de investigación

La presente investigación fue de tipo básica, experimental y de nivel Descriptivo

3.1.3. Materiales e Instrumentación

3.1.3.1 Materia Prima

- Semilla de Palta vr. Hass (*Persea Americana*)

3.1.3.2 Reactivos

- Hexano Q.P.
- Éter
- ABST (6-Hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-ácido carboxílico)
- Acetona
- Cloroformo (CHCl_3)
- Ioduro de potasio (KI) 0.1N
- Tiosulfato de sodio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) 0.1N
- Ácido acético Glacial

- Almidón (indicador)
- Fenolftaleína al 1% en solución etanólica
- Solución de Yodo (METODO Wijs)
- NaOH 0.1N
- BF₃ (trifluoruro de boro)
- Isooctano
- NaClO.1N
- Hexano – Grado cromatográfico
- MeOH grado HPLC 99.9%
- Trolox (patrón o estándar)
- Nitrito de sodio (NaNO₂)
- Cloruro de aluminio (AlCl₃)
- Quercetina (patrón o estándar)
- Folin-ciocalteu 1N
- Carbonato de sodio (Na₂CO₃)
- Ácido gálico (patrón o estándar)

3.1.3.3. Materiales in vitro

- Pipetas
- Placa Petri
- Matraz
- Frascos Ámbar
- Viales
- Pipetas
- Tubos De Ensayo
- Probetas y otros.

3.1.3.4. Otros Materiales

- Papel aluminio
- Frascos ámbar
- Alcohol 75%
- Hipoclorito de sodio

3.1.3.5. Equipos

- Equipo: Soxhlet
Marca: FOSS
Modelo: Soxtec TM 2043
- Equipo: Balanza Analítica
Marca: PRECISA
Modelo: LX 320 SGS
- Equipo: Espectrofotómetro UV/VIS
Marca: UNICO
Modelo: SQ 2800
- Equipo: Lector Multiplaca

Marca: BIOTEK

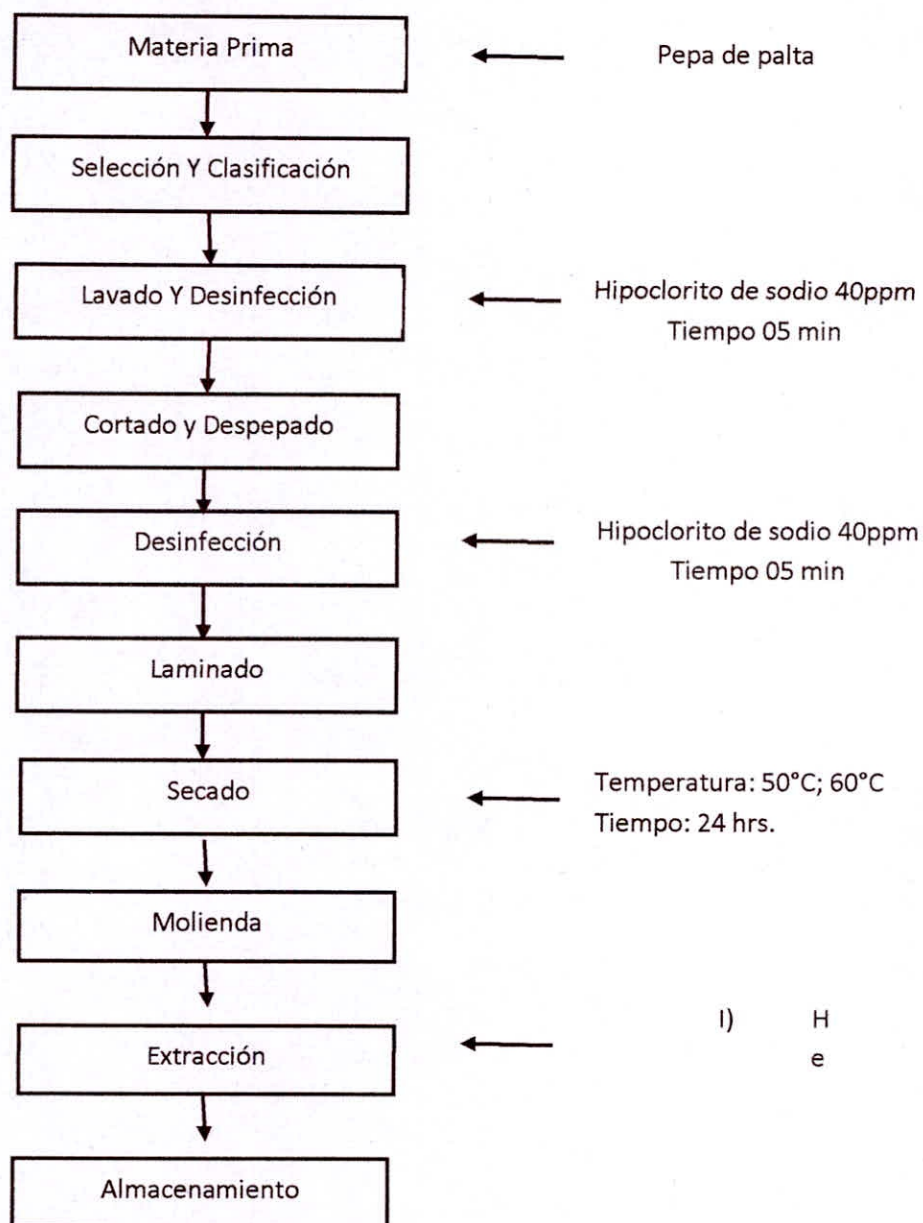
Modelo: EPOCH 2

- Equipo : Cromatografías de gases

Marca: YL INSTRUMENT

Modelo: YL6900

3.1.4. Diseño De La Investigación



3.1.5. Unidad de análisis

Semillas deshidratadas del fruto maduro de *Persea Americana*, a las cuales se les retiró el epispermo, empleándose únicamente los cotiledones y el embrión correspondiente al endospermo.

3.1.6. Población de estudio

- SEMILLA PALTA HASS

Frutos maduros de *Persea americana* recolectados de las plantaciones de la localidad del fundo “El ciruelo” y “San Antonio” ubicada en el departamento de Ancash de los cuales se extrajo 100 kilogramos de los frutos maduros, exentos de enfermedades y libres de golpes fueron transportados al laboratorio del Instituto de Investigación Tecnológico Agroindustrial de la Universidad Nacional de la Santa.

- EXTRACTOS

Los aceites se obtendrán en el laboratorio de análisis y composición de productos agroindustriales en la escuela de Ing. Agroindustrial – UNS.

3.1.7. Muestra

- Aceite de pepa de palta Hass Hexano T(°C):.....ml
- Aceite de pepa de palta Hass Eter T(°C):.....ml

3.2. Técnicas de recolección de datos

3.2.1 Recolección y clasificación de los frutos de *Persea americana* Var. Hass

Los frutos recolectados del distrito de Casma, se trasladaron al Instituto de Investigación Tecnológico Agroindustrial (IITA) ubicada en la Universidad Nacional del Santa (UNS), Escuela Académica de Ingeniería Agroindustrial y se dejaron madurar por 15 días a temperatura de 6 °C. Posteriormente, se clasifico de acuerdo al tamaño y peso del fruto, con el fin de estandarizar las muestras y obtener un mejor rendimiento.

3.2.2 Obtención de la harina de semilla de *Persea americana* Var. Hass

Una vez desecadas las semillas, y se procede a la obtención de la harina, mediante molienda manual en molino artesanal, conjuntamente con los

cotiledones y tegumento deshidratados. La harina de la semilla de palta fue no fue caracterizada sobre el tamaño de partículas.

3.2.3 Análisis químico proximal de la pepa de semilla de *Persea americana* Var. *Hass*

La humedad, proteína, extracto etéreo, cenizas y contenido de fibra dietética se determinaron por triplicado siguiendo los métodos estándar de la Asociación de Químicos Analíticos Oficiales (AOAC), y el contenido total de carbohidratos se calculó como la diferencia a un total de 100%.

3.2.4 Obtención del aceite de semilla de *Persea americana* Var. *Hass*

Se realizaron incisiones a los frutos maduros seleccionados se le realizarán incisiones para liberar las semillas y posteriormente se desecó hasta temperatura constante.

Extracción: Se realizó utilizando el sistema Soxhlet (caracterización).

La harina de semilla desecada fue caracterizada en extraíbles totales mediante Soxhlet. Las distintas extracciones del diseño de experimentos (proceso), se llevaron a cabo con una agitación constante a 140 rpm y transcurrido el tiempo de extracción en ambos casos se evaporó el disolvente del extracto en el equipo Soxhlet. El contenido en extraíbles (b. S.) se calculó como aumento porcentual de peso por cantidad de muestra seca.

3.2.5 Análisis fisicoquímico del aceite de semilla de *Persea americana* Var. *Hass*

Antes de iniciarse los diversos análisis a las muestras de palta se determinó el pH, temperatura (°C), grados Brix (°Brix) e índice de refracción. Estos indicadores permitieron identificar el grado de madurez del fruto.

3.2.7 Análisis del perfil de ácidos grasos del aceite de semilla de *Persea americana* Var. Hass

Mediante la técnica de cromatografía de gases se ha analizado la muestra de aceite de semilla de palta en la universidad privada Cesar Vallejo -Trujillo. En este análisis de ácidos grasos se determinó la concentración tanto de ácidos grasos saturados como insaturados.

3.2.8 Prueba de estabilidad del aceite de semilla de palta mediante Rancimat

La determinación de vida útil de aceites y grasas es la aplicación más común del Rancimat marca METHROM. Se pesó un tamaño de muestra de $3,0 \pm 0,2$ gramos. Se colocó cuidadosamente la muestra directamente en el fondo del tubo de reacción. En los estudios todas las determinaciones se hicieron una relación matemática entre los valores de OSI y la temperatura a 90°C , 100°C y 110°C a un flujo de aire de 15 L/h. Se estimó la vida útil mediante el método de extrapolación a temperaturas usuales de almacenamiento (20 , 25 y 30°C), estableciendo una relación matemática entre los valores del tiempo de inducción y la temperatura. (Nakatani et al. 2001) y (Mendes et al 1996).

$$t_{\text{vida útil}} = A \times e^{BT}$$

3.2.9 Evaluación de la actividad antioxidante del aceite de semilla de *Persea americana* Var. Hass

El valor de TEAC (6-Hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-ácido carboxílico) se determinó según la técnica seguida por Arumugam y otros (2006), la cual fue probar la capacidad de los extractos para inactivar el radical ABTS: 2,2'azinobis-(3- etilbenzotiazolin 6-ácido sulfónico). La preparación del radical (solución stock), para realizar la técnica de TEAC, consistió en pesar 0.0193 g de ABTS que fueron disueltos en 5 ml de agua destilada, mezclando perfectamente. En otro frasco, se pesaron 0.0378 g de persulfato de potasio y se agregó 1 ml de agua, mezclando bien. De la solución preparada anteriormente, se tomaron 88 μl y se agregaron a la solución ABTS preparada inicialmente, se

mezcló perfectamente para dejarlo reposar en oscuridad de 12-16 h a temperatura ambiente. Esta solución dio un color azul intenso característico. Como siguiente paso, se tomó 1 ml de la solución preparada y dejada en reposo anteriormente para agregar aproximadamente 88 ml de etanol. Se leyó la absorbancia hasta obtener 0.7 ± 0.02 a una longitud de onda de 734 nm, ajustando la solución poniendo como blanco el solvente en el que esta disuelta la muestra y ajustando el radical con etanol.

Para la medición de las muestras con el radical se tomó la lectura inicial del radical, siendo la absorbancia inicial. Después se colocaron 2.5 ml de radical preparado en la celda de cuarzo con 33.7 μ l de muestra, se mezcló y se dejó reaccionar 1 min para posteriormente monitorearlo hasta que la reacción termine (estilo cinética, aproximadamente 7 min.) con absorbancia de 734 nm. Se preparó una curva estándar de Trolox para sustituir los resultados de las muestras en la curva obtenida. La prueba se realizó en un espectrofotómetro visible GENESYS* 20. Los datos generados se reportan como μ M de equivalentes Trolox/g de extracto.

3.3. Diseño experimental

Descripción del proceso para la obtención de aceite de Palta por método en caliente

Recepción.- Se verifica que las paltas de descarte estén maduras. Almacenar en una cámara de congelación en el laboratorio de Tecnología y fisiología post-cosecha con adecuada aireación asegurándose que se mantengan con un nivel adecuado de temperatura (5-6°C) y humedad (50 – 60 %) para evitar su deterioro.



Ilustración 5: Recepción de Materia Prima (Palta Hass)

Selección.- Seleccionar los frutos en estadio de madures 6 retirando las impurezas. Se seleccionaron aprox. Unas 150 unidades por muestra de las cuales fueron separadas y desinfectadas.



Ilustración 6: Selección de Materia Prima

Lavado y Desinfección.- Se sumergió el fruto en una solución de hipoclorito de sodio al 0.2% por 10 minutos. Luego se procedió a retirar y poner en una canastilla verde para que drene el líquido y facilitar la manipulación al momento del despepado.



Ilustración 7: Lavado y Desinfectado

Cortado y Despepado.- Se partió en mitades y se retiró la cascara con la pulpa de palta para obtener solo la semilla. Se realizó el mismo procedimiento las todas la unidades de palta tratando de no dañar la semilla al momento del corte. Posteriormente volverlo a desinfectar las semillas.

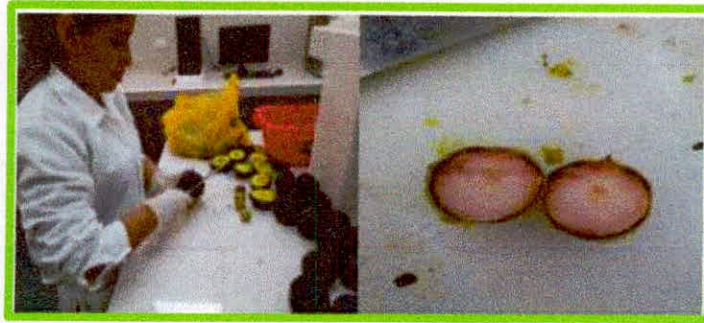


Ilustración 8: Cortado y Despepado

Desinfección.- Se sumergió el fruto en una solución de hipoclorito de sodio al 0.4% por 5 minutos



Ilustración 9: Desinfección de las pepas

Laminado.- Después de armado la Rodajadura, Colocar las pepas en la en el equipo para obtener un laminado homogéneo de la materia prima con la finalidad que al momento del secado sea uniforme en todas las áreas de la pepa de palta.



Ilustración 10: Laminado en Rodajadura

Secado por Estufa.- Colocar las láminas de pepa obtenidas de la Rodajadura sobre papel aluminio encima de las rejillas de forma uniforme para obtener un correcto secado. Luego posicionarlas dentro de una estufa con aireación y programar el secado del fruto a 50 °C y 60 °C por 24 horas.



Ilustración 11: Secado de la Pepa de Palta

Molienda.- Colocar las muestra en un molino y moler hasta que queden partículas pequeñas. Envasarlas en bolsas de polietileno de alta densidad hasta su extracción.



Ilustración 12: Pepa de Palta seca molida.

Extracción del aceite.- Colocar la muestra de pepa seca en bolsas de papel filtro que se colocaran en los capuchones dentro del equipo para luego en un recipiente con hexano ser extraídos; aplicamos la misma metodología para el solvente Éter. Colocar otro recipiente en el equipo Soxhlet para luego proceder a recuperar el solvente.



Ilustración 13: Extractor de Aceites y Grasas

Almacenamiento.- Colocar las muestras en un frasco ámbar, seco y limpio; almacenar a temperatura de refrigeración.

3.4 Análisis e interpretación de datos

Para el procesamiento de datos se empleó un diseño factorial que proporcionan los valores máximos en rendimiento de extraíbles y poder antioxidante en los extractos de

Procesamiento de los datos

El procesamiento de datos se desarrollará en base al programa estadístico STATGRAPHICS para evaluar los resultados obtenidos a nivel experimental.

Asimismo se usó el programa IBM SPSS statistics 21 para el procesamiento estadístico descriptivo y el programa EXCEL 2013 para la presentación de los resultados.

Procedimiento a seguir para probar las hipótesis

Prueba de hipótesis

HP = HO = Que todos los tratamientos no tienen diferencia significativa.

Ha = Al menos uno de los tratamientos es diferente a los demás

α : Nivel de significancia = 5%

El tratamiento es el resultado de aplicar los niveles a un factor. El factor es un ingrediente que interviene en un tratamiento, mientras que un nivel es cada una de las categorías del factor. Para este caso específico el factor y niveles a considerar serán:

Tabla 9: Factor y niveles del diseño experimental

Factor	Niveles
A: Cantidad de Polifenoles	A1: [] al 5%
	A2: [] al 10%

CAPITULO IV

RESULTADOS Y DISCUSION

4.1 Obtención de la harina de semilla de *Persea americana* Var. *Hass*

4.1.1 Deshidratación de las semillas aisladas

Las semillas enteras (incluido el epispermo) aisladas del fruto, luego de las mediciones, se llevaron a deshidratar en la estufa, mediante calor por convección a 50°C (M1) y 60°C (M2) hasta peso constante.

Determinándose el peso seco (g) y porcentaje de peso seco de la semilla (%).

Tabla 10: Evaluación de las semillas deshidratadas

Semilla de palta	Muestras	Peso (g)	Porcentaje (%)
Semilla fresca	Muestra 1	907.96	100
	Muestra 2	914.1	100
Semilla deshidratada	Muestra 1	384.04	42.30
	Muestra 2	467.08	51.10

Una vez separada la pulpa comestible del fruto, quedan como residuos la cáscara y la semilla. Dependiendo de las variedades esta única semilla alcanza entre 15 a 18% del peso total del fruto tipo baya. Sin embargo se determinó el peso desecado de la semilla en un promedio de 19,87 g. equivalente a un 25,60% del peso promedio de la semilla. Según (Bora y Col. 2001) información sobre la semilla en Brasil, la semilla de palta representa entre el 12 – 28% del peso en la fruta, dependiendo de la variedad, porcentaje coincidente con el promedio de 25%.

El epispermo de la semilla es una fina capa fibrosa de color marrón oscuro. Como se muestra en la tabla el peso promedio de la muestra en semilla seca es

de 911.03g, obteniendo un rendimiento después del deshidratado de un 46.70% en promedio de la muestra inicial al 100%; Una vez desecada la semilla se trituraron los cotiledones junto al embrión, empleando un molino manual.

4.1.2 Obtención de la harina de semilla de palta

Una vez desecadas las semillas, se desechó el epispermo y se procedió a la obtención de la harina, mediante la molienda manual en molino casero, de los cotiledones deshidratados. (Véase fotos en Anexos).

Tabla 11: Evaluación de la harina de semilla de palta

Harina de semilla palta	Peso deshidratado (g)	Peso después de la molienda (g)
Muestra 1	384.04	383.79
Muestra 2	467.08	466.78

Después de la molienda el % de pérdida fue de un 1% del peso inicial deshidratado, lo cual no representa diferencias significativas en las posteriores evaluaciones en rendimiento de la harina de palta.

4.2 Análisis químico proximal de la harina de semilla de *Persea americana* Var.

Hass

La humedad, extracto etéreo, cenizas, proteína y fibra se determinaron por triplicado siguiendo los métodos estándar de la UNE – EN ISO 5983 (2006), 64021 (1970), 64015 (1971).

Tabla 12: Análisis químico proximal de la semilla de palta (materia prima)

Análisis químico proximal	
% Humedad	48.93 ± 2.01
% Cenizas	0.99 ± 0.03
% extracto etéreo	2.65 ± 0.17
% proteína	3.66 ± 0.17
% carbohidratos (*)	40.73 ± 1.85
%Fibra	3.05 ± 0.10

(*)Por diferencia

El análisis químico proximal de la semilla de palta reportó un contenido de humedad de 48.93%; dentro de los macronutrientes se destaca un contenido de 40.73% de carbohidratos, 3.66% de proteínas y 2.65% de lípidos; finalmente un 3.05% de fibra cruda y 0.99% de cenizas. Es importante destacar que la fibra cruda está compuesta por celulosa y hemicelulosa.

Actualmente no se tienen estudios bromatológicos oficiales sobre semilla de palta, debido probablemente a que la semilla de palta es considerada un material de desecho del procesamiento industrial de la palta. Sin embargo, (Ceballos y Montoya. 2013) realizaron un estudio bromatológico sobre las fracciones: cáscara, pulpa y semilla de tres variedades de palta cultivadas en Colombia (Booth8, Trinidad y Papelillo), con la finalidad de identificar carbohidratos solubles y fibra cruda; y adicionalmente observar al variación del contenido de macronutrientes entre los estadios de madurez fisiológica (al momento de la recolección) y madurez comercial (luego de 8 días de maduración en almacenamiento).

La literatura no dispone de trabajos sobre el valor nutritivo de la semilla. En base seca la semilla puede llegar a contener hasta el 6% de proteína pero no se ha informado del

valor proteico de este producto, ni de su contenido aminoácido esenciales (Bressani, 2009). Son aspectos que deben ser conocidos si es que se desea hacer uso de este subproducto en alimentación. Por otro lado el nutriente más importante son los CHO en una cantidad del 75% en base seca, (Valeri & Gimeno, 1953) sugiere en un estudio que la semilla de palta es toxica para ratones.

4.3 Análisis fisicoquímico de la harina de la semilla de Persea americana Var. Hass

El índice de refracción, la acidez titulable y peróxidos se determinaron por triplicado siguiendo los métodos estándar de la Norma INEN 277: 1978 – 02 y (NTC 4623). (ICONTEC, 1999).

Análisis fisicoquímico	
pH	6.54 ± 0.18
°Brix	1.59 ± 0.19
Índice de Refracción	1.40 ± 0.07
Acidez titulable (ácido tartárico)	0.17 ± 0.05
Peróxidos	1.39 ± 0.01

Tabla 13: Análisis fisico-químico de la semilla de palta (materia prima)

En este proceso se efectuaron pruebas fisicoquímicas preliminares. Determinándose un promedio de % de acidez 0.17%, pH 6.54, °Brix 1.59 y el índice de refracción 1.40

A diferencia de la mayoría de las frutas, la palta no alcanza la madurez en el árbol, sino luego de un proceso de maduración mediante su almacenamiento por siete a dieciséis días, preservado de la luz y una temperatura adecuada de 10 a 15 °C. La madurez fisiológica se determina por su cosecha, está dado por las características externas del fruto como son: el color y el tamaño y por la concentración mínima del aceite de la pulpa que debe ser de 8% (Ozdemir, 2004). Sin embargo, la madurez comercial es difícil de determinarse en la palta var. Hass porque su inicio no está acompañado de cambios externos visibles en lo que se refiere al color y la textura y además es variable en las diferentes variedades (Jiménez *et al.*, 2001). Durante este proceso de almacenaje tiene lugar en la pulpa de la palta la biosíntesis de ácidos grasos con el aumento correspondiente del contenido lipídico y una pérdida proporcional del agua que puede incrementar entre 100 y 150% el contenido lipídico de la pulpa cuando se alcanza la madurez comercial. El período para su consumo puede durar un promedio de 7 días. Actualmente, el análisis fisicoquímico preliminar aplicado a la pulpa, mediante la determinación de los indicadores % de acidez, pH, sólidos totales (°Brix) y el índice de refracción permite identificar con precisión grados de maduración comercial E1-V (verde), E-2P (pintón) y E3-M (maduro). El pH es un buen indicador del estado de madurez. Según (Buelvas y col. 2012) el pH varía de 6,49 para el estadio maduro hasta un 6,26 para el estadio verde.

Asimismo los mismos autores establecieron la fórmula del índice de madurez comercial del fruto, mediante la relación Sólidos totales (°Brix)/Índice de acidez (% de acidez) para determinar el grado de madurez del fruto. El pH de la semilla del fruto en estado de madurez comercial (E3-M) tuvo un promedio de 6.54 comparable con el valor promedio de 6,41 encontrado por (Buelvas y col. (2012) y valores máximos de 6,49. La medición de Índice de madurez, es un indicador más sensible de madurez comercial. Sin embargo, en el presente estudio no se pudo medir debido a que los valores de sólidos solubles (°Brix) cuyo valor promedio es 1.59; obviamente valor mucho menor que el reportado por (Buelvas y col. 2012) que es de 7.39, quienes realizaron esta medición directamente sobre pulpa de la palta.

Respecto al aceite de semilla de palta se caracterizó a través de los principales parámetros fisicoquímicos, cuyos resultados fueron: índice de acidez (mgKOH/g aceite) 0.17 ± 0.05 , índices de peróxidos (meq de oxígeno activo/1000 g de aceite) 1.39 ± 0.01 , índice de refracción (25 °C) 1.40 ± 0.07 , mostrando valores con una diferencia estadísticamente no significativa ($p < 0,05$).

Si bien es cierto que recientemente se vienen efectuando investigaciones sobre métodos y técnicas industriales eficientes para la obtención del aceite de la pulpa de la palta con fines comerciales culinarios, métodos especialmente amigables con el medio ambiente como la extracción por fluidos supercríticos o mediante el empleo de enzimas (Restrepo y col., 2012). Actualmente son escasos los estudios completos sobre la calidad fisicoquímica del aceite de semilla palta. Es posible que esto se deba al bajo contenido de aceite presente en la semilla. El contenido total de aceite en la semilla es de apenas 2.65 % (véase Tabla 11).

El índice de acidez es un importante indicador de la calidad de un aceite, un valor de 2,123 es relativamente bajo. Expresa la concentración de ácidos grasos libres. El índice de acidez elevado guarda relación con la exposición a temperaturas elevadas durante los procesos de extracción. Se considera que la primera extracción en frío mediante prensa de madera roble permite obtener aceites denominados extra virgen, cuyos valores son menores a 0,8. (Méndez y Falqué, 2007) encontraron valores entre 0,30% y 0,45% para el aceite de oliva comercial extra virgen.

4.4 Análisis de rendimiento de la Obtención del aceite de semilla de *Persea americana* Var. *Hass*

Se utilizó 10,0 g. de materia seca de harina de semilla de palta para extraer tanto con hexano y eter por extracción tradicional Soxhlet, siguiendo el método recomendado por la Asociación de Químicos Analíticos Oficial Internacional (AOAC). El uso de la técnica de extracción con el hexano dio como resultado promedio de 13.82% y con el éter dio como resultado 20.99% de aceite con respecto a la materia prima.

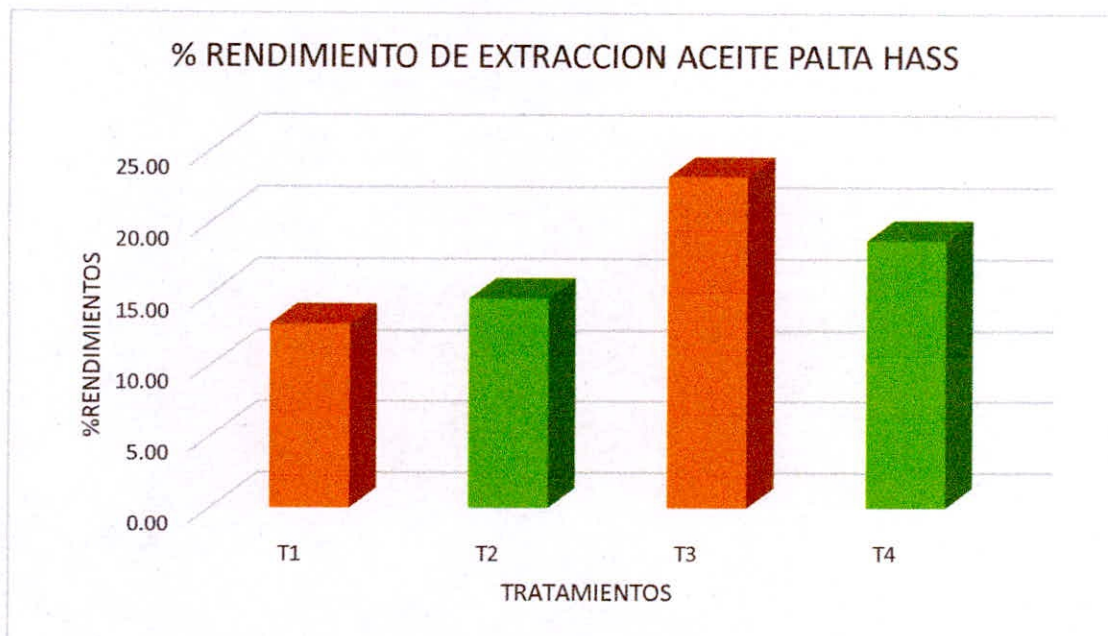
Tabla 14: Rendimiento de la extracción del aceite de semilla de palta (*)

Tratamientos	% RENDIMIENTO DE EXTRACCION			Promedio
	R1	R2	R3	
T1	8.48	15.75	14.54	12.92
T2	13.50	14.02	16.63	14.71
T3	22.68	20.82	26.11	23.20
T4	16.70	17.01	22.61	18.77

*media 3 repeticiones \pm SD

Si bien la extracción por solvente Eter es la que más porcentaje de rendimiento se obtiene, su uso implica riesgos para la seguridad debido al uso de solventes orgánicos, por tanto se debe tener mucho cuidado en su extracción y manejo, a diferencia del prensado que tiene una tecnología más limpia, ya que no genera concentraciones de compuestos residuales (Martínez, 2008).

GRAFICA 6: Comparación del % Rendimiento obtenido de la semilla de palta en función de la extracción para los diversos tratamientos.



Los resultados fueron analizados usando el análisis de varianza (ANOVA) para el plan experimental usado. Para comparar la dispersión y simetría de los datos obtenidos se usó la representación gráfica de cajas y bigotes y para establecer la diferencia significativa entre tratamientos, se usó la prueba de diferencias honestamente significativa de Tukey (HSD), como se muestra a continuación:

Análisis de varianza para rendimiento

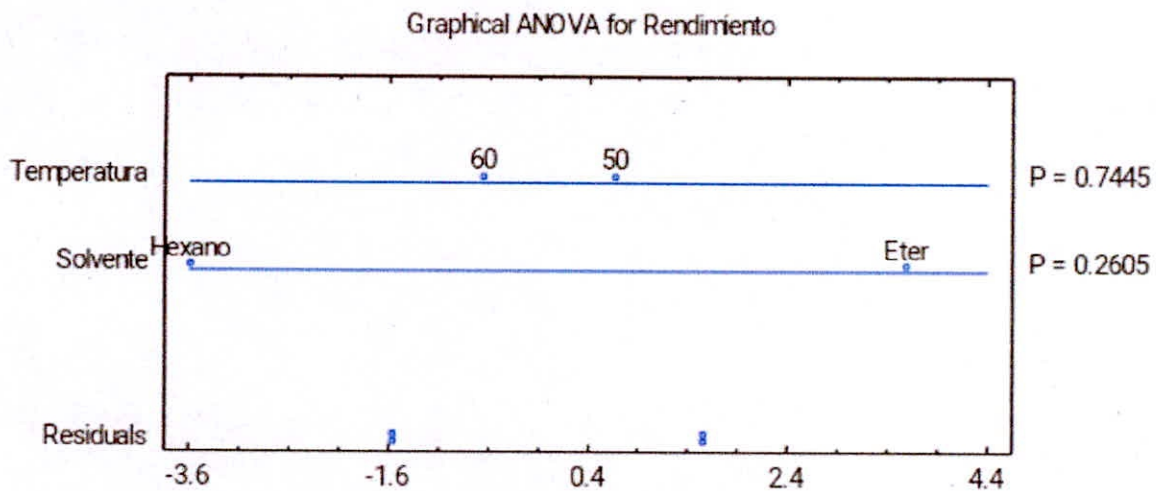
En la tabla 14 se muestra el análisis de varianza (ANOVA) para rendimiento, el factor "A" representa los tipos de Solvente y el factor "B" representa los tipos de Temperatura, cabe mencionar que este factor consta de 4 niveles. Se observa que la significancia del efecto fue determinado usando el valor p ($P < 0.05$), donde el valor p más pequeño indica la significancia alta del coeficiente; para nuestro caso los valores p indica que los tratamientos NO son significativos, los cuales tienen un efecto notable en el rendimiento de extracción. Por tanto, al observar el valor de p obtenido en el análisis de varianza, éste fue mayor a 0.05, por lo que los tipos de tratamientos no muestran efecto e influencia en los valores del rendimiento de extracción.

Tabla 15: Tabla de Análisis Varianza por Rendimiento para el porcentaje de extracción de aceite de Palta

<i>Source</i>	<i>Sum of Squares</i>	<i>Df</i>	<i>Mean Square</i>	<i>F-Ratio</i>	<i>P-Value</i>
MAIN EFFECTS					
A: Solvente	51.4089	1	51.4089	5.32	0.2605
B: Temperatura	1.7424	1	1.7424	0.18	0.7445
RESIDUAL	9.6721	1	9.6721		
TOTAL (CORRECTED)	62.8234	3			

All F-ratios are based on the residual mean square error.

GRAFICA 7: Grafico de ANOVA para el análisis de rendimiento en Aceite de la semilla de Palta var. Hass



A pesar de no encontrar significancias entre Solventes y Temperatura se procedió a para evaluar el Anova por separado Para determinar la comparación entre ambos tratamientos.

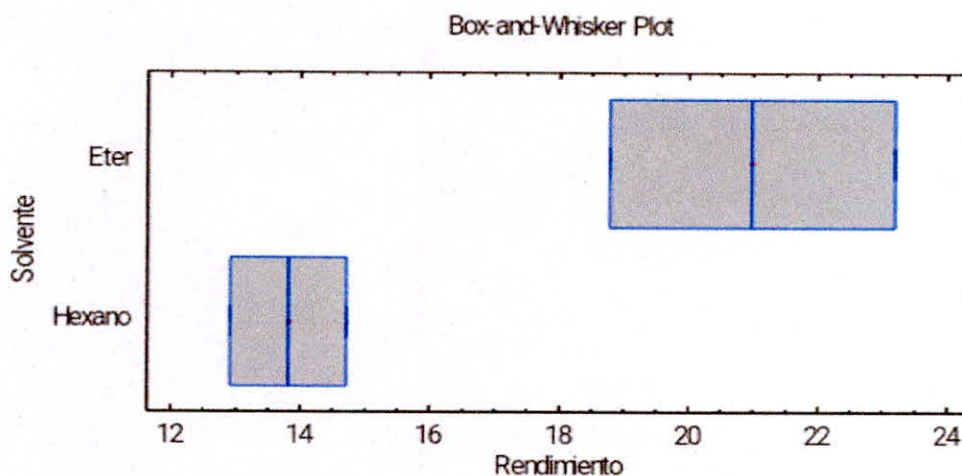
Actualmente la investigación de la composición química del aceite de semilla de la palta ha impulsado el desarrollo de diversas técnicas de extracción no oficiales de la AOAC (Asociación de químicos analíticos oficiales). Dentro de la cuales se encuentran los métodos acuosos y enzimáticos como los descritos por (Rosenthal, 2008), los cuales permiten una mejor conservación de los ácidos grasos insaturados y menos riesgos por solventes tóxicos, con rendimientos de hasta un 80% (Costa, V. 2001) y métodos enzimáticos asociados a las microondas que permiten rendimientos de hasta un 90% (Jiménez, y col., 2001).

Tabla 16: Tabla de Análisis Varianza por % de extracción por Solvente de aceite de Palta

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	51.4089	1	51.4089	9.01	0.0954
Within groups	11.4145	2	5.70725		
Total (Corr.)	62.8234	3			

Se observa que la significancia del efecto fue determinado usando el valor p ($P < 0.05$), para nuestro caso los valores p indica que los tratamientos no son significativos, los cuales tienen un efecto notable en el rendimiento de extracción mediante el tipo de Solvente (Hexano y Eter). Por tanto, al observar el valor de p obtenido en el análisis de varianza, éste fue mayor a 0.05, por lo que los tipos de tratamientos no muestran efecto e influencia en los valores del rendimiento de extracción.

GRAFICA 8: Grafico de Caja y Bigote para el análisis de rendimiento por SOLVENTE en Aceite de la semilla de Palta var. Hass



Para el caso de la evaluación de la Temperatura se determina que tampoco son significativamente diferentes puesto que el valor P es mayor al 0.05 dando como resultado $p < 0.8335$, por lo que los tipos de tratamientos no muestran efecto e influencia en los valores del rendimiento de extracción.

Existe una producción de fruta que se ha hecho económicamente factible producir aceite de palta con aplicaciones en alimentos, así como cosméticos. Esto ha causado que exista la disponibilidad de que la semilla de palta sea como un subproducto hasta la fecha no utilizable. Sin embargo algunos estudios han publicado sobre el contenido de lípidos en la semilla de palta y las características fisicoquímicas y el contenido de ácidos grasos así como la cantidad de polifenoles que se encuentran en la pulpa y semilla de palta (Bora et al. 2001) usando la pulpa y la semilla de la variedad fuerte cultivada en Brasil indicaron que la pulpa contenía 15.39% de aceite y la semilla 1.87% siendo comparada

con nuestros resultados se llegó a obtener 2.65% según la variedad Hass mayor al porcentaje obtenido en la investigación por (Bora et al. 2001) con la variedad Fuerte.

4.5 Análisis del perfil de ácidos grasos del aceite de semilla de *Persea americana*

Var. Hass

Mediante la técnica de cromatografía de gases se ha analizado la muestra de aceite de semilla de palta en el laboratorio de química de la universidad Cesar Vallejo - Trujillo. (Véase resultados de cromatogramas en anexos)

Tabla 17: Composición de Ácidos Grasos del aceite de palta Hass extraído por solvente Hexano y Éter.

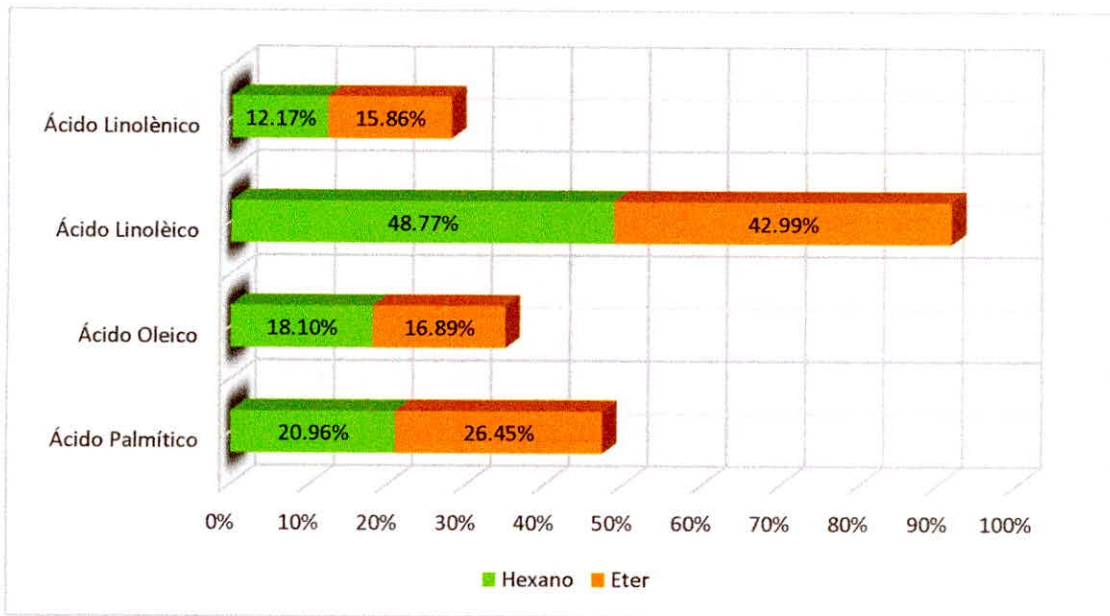
Ácido Graso	Abreviatura	Hexano (*)	Éter (*)
Ácido Palmítico	C16:0	20.96%	26.45%
Ácido Oleico	C18:1	18.10%	16.89%
Ácido Linolèico	C18:2	48.77%	42.99%
Ácido Linolènico	C18:3	12.17%	15.86%

(*) Media con 3 repeticiones

Según (Bora et al. 2001) informa que por HPLC existen 22 ácidos grasos en el aceite de pulpa de palta y 27 ácidos grasos en el aceite de semilla de palta; el aceite de pulpa contiene 22.93% de ácidos saturados en contra de un 34.49% para el aceite de semilla de palta. Con respecto a los ácidos grasos mono-insaturados, el aceite de semilla contiene 20.71% mientras que el de pulpa 67.43%.

Con respecto a nuestro reporte en promedio se tiene para ácidos saturados 23.71% muy por debajo de un 32.49 % que menciona (Bora et al. 2001) y con respecto a los ácidos insaturados tenemos en promedio un 17.49%, menor a lo que menciona el autor.

GRAFICA 9: Composición de ácidos grasos en la semilla de palta Hass en Base seca



El análisis cromatográfico de gases para identificar ácidos grasos permitió identificar cinco picos: el primer pico a 10,14 min no fue identificado por ninguno de los estándares empleados. Los cuatro picos restantes se identificaron en el rango de 37,32 min a 47,25 min, revelando que la semilla de palta Hass tiene una concentración de ácidos grasos para el caso de extracción con hexano de C18:1 (18.099%), C18:2 (48.766%), C18:3 (12.171%) y con extracción de éter de C18:1 (16.892%), C18:2 (42.991%), C18:3 (15.863%) relativamente alto a comparación del investigador (Bressani, 2009) que menciona una concentración para la semilla de palta de C18:2 omega-6 (38.9%) y de C18:3 omega-3 (6.57%).

Según el proyecto FODECYT en el año 2006 realizó una investigación sobre la composición química de la semilla de aguacate (palta) y nos muestra estos resultados como se observa en la siguiente Tabla N° 12*

Tabla No. 12: Contenido de ácidos grasos en el aceite de la semilla de aguacate

Acido Graso	Criollos				Variedades	
	1	2	3	5	Utz	Hass
Mirístico (C14:0)	5.31	6.47	8.47	7.75	12.83	8.16
Palmitico (C16:0)	40.71	48.46	44.50	38.40	26.06	24.10
Estearico (C18:0)	3.85	5.57	0.57	4.77	0.79	5.87
Oleico (C18:1)	2.26	1.31	2.27	2.93	0	3.62
Linoleico (C18:2)	3.39	1.29	2.60	0	1.83	1.23
Linolenico (C18:3)	2.47	0.84	1.54	3.72	3.70	2.68

Fuente: Proyecto FODECYT 02-2006

La presencia de ácidos grasos insaturados es una de las principales características de la palta. En este fruto, el principal precursor de nuevos ácidos grasos es la coenzima acetil-CoA; la presencia de insaturaciones se debe a los mecanismos propios de la planta para fijar dobles enlaces y la producción de ácidos grasos poliinsaturados se consigue gracias al retículo endoplasmático.

La biosíntesis de ácidos grasos es afectada también por factores ambientales de pre cosecha como luz, temperatura, riego, constituyentes del suelo, daños físicos y ataque de plagas (Ozdemir y Topuz, 2004).

4.6 Evaluación de la actividad antioxidante y contenido de polifenoles de la semilla de *Persea americana* Mill. Var. Hass

Mediante la técnica de ABTS y Folin Ciocalteu se ha analizado la muestra de harina de semilla de palta en el laboratorio de Investigación Agraria la Molina – Lima y la universidad privada Antenor Obrego (UPAO) – Trujillo.

4.6.1 Evaluación de la actividad antioxidante del aceite en función a la captación del radical ABTS (2,2' Azinobis (3 etilbenzotiazolinaácido sulfónico).

Uno de los métodos más empleados para determinar la actividad antioxidante es la captación de radicales libres sintéticos en solventes orgánicos polares, como el metanol a temperatura ambiente. Los radicales más utilizados son del tipo 2,2 difenil-1picrilhidrazilo (DPPH) y el 2,2'-azinobis (3etilbenzotiazolinasulfónico) (ABTS) (Pokorny et al., 2005).

Tabla 18: Evaluación de la Capacidad antioxidante por la prueba del ABTS de la semilla de *Persea americana Mill.* Variedad Hass

Ensayos	R1 (umol TE/100 g de m.)	R2 (umol TE/100 g de m.)	PROM
1.- Capacidad Antioxidante T 60°C	25235.7	25265.59	25250.65
2.- Capacidad Antioxidante T 50°C	25542.65	25587.38	25565.02

En el presente trabajo se evaluó la actividad antioxidante total de la semilla de palta por el método de ABTS alcanzándose un valor en Kg de 25,250 μmol de Trolox equivalente/kg, a una temperatura de secado de 60°C; mientras que a una menor temperatura de secado de 50°C se tiene un valor de 25,565 μmol de Trolox equivalente/kg. Valor casi el triple del antioxidante total que reportar otros autores con un valor de 5,313 $\mu\text{mol TE/kg}$, (Rengifo, 2014). Esto se debe a que el ABTS es un radical catiónico mucho más reactivo que el DPPH la reacción transcurre en tan solo un minuto y tiene afinidad con los antioxidantes polares como los polifenoles (Miller et al., 1993).

De acuerdo a la bibliografía (Chavez, 2011) indica como resultado, empleando el método ABTS 13,809 $\mu\text{mol TE/kg}$ y 1.079 $\mu\text{mol TE/kg}$ para cascara y semilla respectivamente; de acuerdo a estos resultados se indica que la muestra utilizada para el análisis consta de la semilla completa incluida la cascara dando como resultado lo ya mencionado líneas arriba.

(Pahua et al. 2012) han investigado el efecto hipocolesterolémico de la harina de semilla de palta empleado en un modelo de investigación con ratones. Por la elevada concentración de productos fenólicos en la harina. Ellos hicieron una identificación de los principales compuestos fenólicos, entre los cuales por su concentración (expresado en $\mu\text{g/g}$) destacan: Acido Protocatecuico 128,18 \pm 0,01, Kemferido 107,42 \pm 0,04 y ácido Vanílico 28,67 \pm 0,001, en menor proporción de

identificó Kemferol, Rutina, ácido Clorogénico y ácido Siringico. Estos compuestos serían los responsables del elevado poder antioxidante 173,3 μmol Trolox equivalente/g peso seco de harina de semilla, cuando se evaluó el extracto metanólico por el método de ABTS (2, 2'-azinobis- ácido 3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico) (Soong y Barlow, 2004).

4.6.2 Evaluación del contenido de polifenoles en la semilla de palta Hass.

Para medir los polifenoles totales se utilizó el espectrofotómetro. Este análisis se basó en el uso del reactivo Folin Ciocalteu (mezcla de fosfowolfrámico y fosfomolibdico), que se basa en la capacidad reductora de los polifenoles oxidados (Ainsworth y Gillespie 2007). Se tomó un gramo de harina de semilla de palta, se diluyó en 9 mL de agua destilada, se agitó con un sonificador hasta que quedó bien lechoso. Se vertió en un tubo de ensayo 100 μL de la muestra, se agregó 1 mL de Folin-Ciocalteu, se agitó y se dejó reposar por 3 minutos. Se agregó 1 mL de carbonato de sodio, se agitó y se dejó reposar 7 minutos. Posteriormente se agregó 3 mL de agua destilada, se agitó y se dejó reposar por 3 horas. Finalmente se midió absorbancia de la solución a 726 nm. Este procedimiento se hizo para todas las unidades experimentales de forma duplicada. El contenido de fenoles totales fueron expresados en equivalente mg de ácido gálico, ya que se preparó una curva estándar, a través de una dilución de ácido gálico de 600, 400, 200, 100 ppm.

Tabla 19: Contenido de Polifenoles en la semilla de palta Hass.

Variedad	Polifenoles Totales (mg Acid. Galico/100g)		
	R1	R2	Prom
Semilla de Hass	127.54	237.65	182.595 \pm 77.86

La cantidad de polifenoles en el tegumento y endospermo (semilla completa) en este estudio, se debió a que la semilla de aguacate también contiene polifenoles totales en 182.595 mg/100 g a diferencia de otros autores con 137.12 µg/mg (Lee *et al.* 2008). En ningún tratamiento se mostraron cambios de polifenoles totales a través del tiempo. Esto se debe a que el estudio no se analizó directamente la reacción de la PPO con los polifenoles totales, ya que el reactivo que se usó fue el Folin-Ciocalteu, este reactivo es una fuente de iones metálicos oxidativos. El aguacate criollo contiene minerales que pueden reaccionar con los metales oxidables que contiene el Folin-Ciocalteu, estos minerales son: sodio, calcio, magnesio, fósforo, potasio, zinc y cobre (Arukwe *et al.* 2012).

De acuerdo a (Bressani, 2009) nos muestra un cuadro comparativo de los análisis de taninos y polifenoles en las diferentes muestras de palta de acuerdo a su variedad.

En México es una costumbre servir la pasta de aguacate con una semilla en el centro, aduciendo que esto permite que la pasta no sea afectada por la polifenol oxidasa que le da una coloración oscura poco agradable. La base de esta práctica no se ha estudiado, lo cual podría ser la base para obtener antioxidante natural a ser agregados a las pasas. Es por consiguiente posible que el tegumento de la semilla de palta contenga polifenoles con actividad antioxidante. Este tegumento se obtiene al deshidratar la semilla. Sin embargo no se sabe sobre esta fracción. Varios estudios se han publicado sobre la capacidad antioxidante del aguacate (Geissman *et al.* 1965), (Matsusaka *et al.* 2003), (Yean-Yean *et al.* 2004), (Terosawa *et al.* 2006).

4.7 Aplicación de la semilla de palta Has como antioxidante natural en la pulpa y aceite de palta.

4.7.1 Prueba de estabilidad del aceite de semilla de *Persea americana* Var. *Hass*

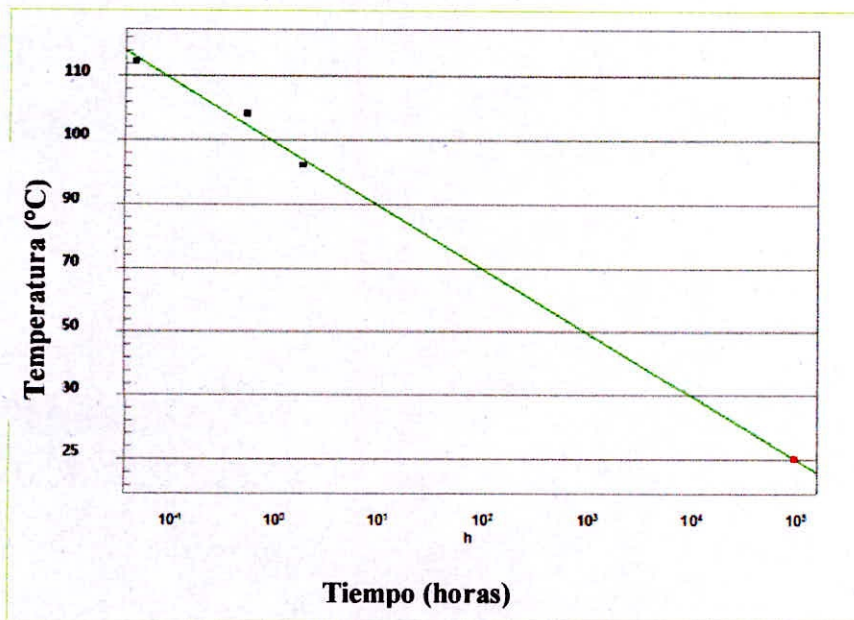
Tabla 20: Evaluación de la estabilidad del aceite de semilla de palta mediante Rancimat a diferentes temperaturas de almacenamiento

Tiempo de Vida Útil (años)		
Temperatura (°C)	Aceite de palta con aplicación	Aceite de palta control
20	7.239	6.890
25	4.658	4.127
30	2.051	1.964

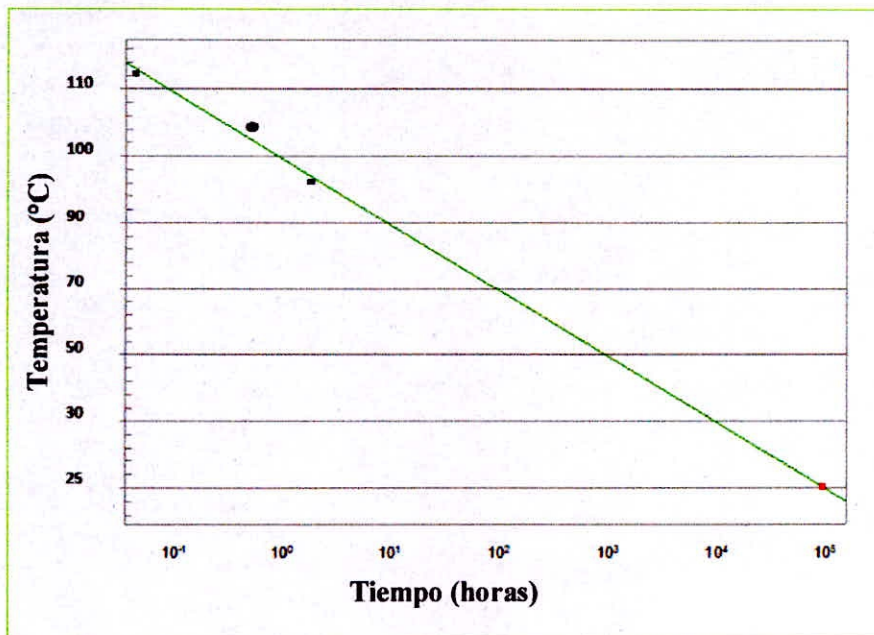
El nivel de ácidos grasos insaturados presentes en los aceites juega un papel determinante en su estabilidad oxidativa, altos grados de insaturación generan menor tiempo de vida útil, sin embargo se puede sugerir a otros factores antioxidantes de origen natural en el aceite la cual contribuyen a la estabilidad oxidativa. (Lutterodt, 2011)

La vida útil estimada a 20°C, 25°C y 30°C mediante extrapolación (Gráficas 10 y 11) fue de 7.239; 4.658 y 2.051 años para el aceite con aplicación de aceite de semilla palta, mientras que para el aceite de palta sin agregados fueron de 6.890; 4.127 y 1.964 respectivamente. Al comparar los valores experimentales con los reportados en la literatura, el aceite de palta supera al aceite de oliva (1.63 años), aceite de girasol (1.68 años), uva (0.22 años) y sésamo (0.50 años) reportados por (Navas, 2010) a la temperatura de 25°C.

GRAFICA 4: Estimación de vida útil del aceite a 25°C - Control



GRAFICA 5: Estimación de vida útil del aceite a 25°C - Con Aplicación



Debido a que la velocidad de oxidación es exponencialmente proporcional a la temperatura, la vida útil de un lípido disminuye logarímicamente con el aumento de la temperatura (Frankel, 1998).

La auto-oxidación de los aceites procedentes de las semillas oleaginosas se debe a la oxidación de ácidos grasos poliinsaturados, los cuales se encuentran libres o formando parte de los triglicéridos. Este proceso se inicia por la exposición a la luz en presencia de un factor sensibilizante como lo es la clorofila (Pokorny et al., 2005). Por otro lado, la presencia de fosfolípidos presentes en las membranas celulares y la lipooxigenasa puede provocar la descomposición del aceite durante el proceso de su obtención y provocar fragancias, a veces considerados agradables y característicos del aceite. Las reacciones de auto-oxidación usualmente pasan por un periodo de iniciación en el cual se aprecian muy pocos cambios en el aceite. Recién al final del periodo de iniciación se aprecian los olores desagradables (Pokorny et al., 2005). El mecanismo se inicia por la formación de hidroperóxido por acción de la lipooxigenasa catalizada por algunos cationes metálicos, esto puede tener lugar durante el proceso de extracción. Los hidroperóxidos no tienen olor ni sabor. Los productos de reacción como los alcoholes, carbonilos y los carboxilos, producen un aumento de sabor y olor desagradables propios de los alimentos oxidados (Shahidi, 1997). Se han determinado las velocidades comparativas de oxidación de algunos ácidos insaturados; oleico: linoleico; linolénico, como 1:12:25 y esteárico: oleico: linoleico, como 1:100:1000 (Silbert, 1962).

4.7.2 Determinación de color en la pulpa de palta de *Persea americana* Var. *Hass*

Elaboración de la pasta de palta: Se escogieron frutas que estaban uniformemente maduras para su fácil manipulación, se separaron las semillas, las cáscaras y la pulpa. Se vertió la pulpa dentro de un recipiente, luego con una batidora a velocidad uno se removió a modo que quedó mezclado.

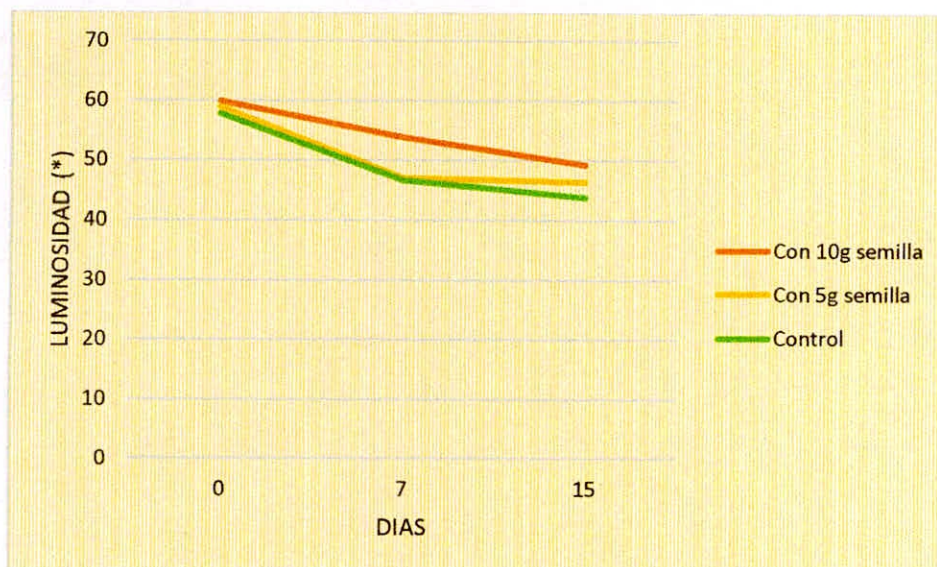
Se separaron tres platos Petri con 100 g de pulpas cada uno, agregándole 10 gramo de harina semilla de palta, a otro 5 gramo de harina semilla y el otro solo contiene pulpa, las mediciones se realizaron durante 15 días y los resultados fueron los siguientes:

Tabla 20: Análisis del color en el aceite de palta Hass

Muestras de pulpa palta Hass	DIAS			Cromaticidad (15 ^{avo} día)
	0 días	7 días	15 días	
Con 10 g semilla	L*:59.84 a*:-4.16 b*:28.9	L*:53.9 a*:-3.73 b*:25.5	L*:49.3 a*:-1.06 b*:22.6	22.63
Con 5g semilla	L*:58.91 a*:-4.09 b*:29.5	L*:47.1 a*:-3.19 b*:24.7	L*:46.5 a*:-0.90 b*:20.8	20.82
Control	L*:57.92 a*:-4.06 b*:29.1	L*:46.7 a*:-3.10 b*:24.4	L*:43.9 a*:-0.94 b*:20.1	20.12
Promedio	L*: 58.89±0.96 a*: -4.10±0.05 b*: 29.17±0.31	L*: 49.23±4.05 a*: 3.34±0.34 b*: 24.85±0.57	L*: 46.57±2.70 a*: -0.97±0.08 b*: 21.17±1.29	C*: 21.12±1.29

En la tabla 20 se recogen los valores medios y desviación estándar de los diferentes parámetros del color para las muestras. La muestra de pulpa obtenido presentó una luminosidad de 58.89 mientras que sus coordenadas cromáticas tales como a* y b* se encontraron en -4.10 y 29.17, croma de 21.12.

GRAFICA 12: Grafica de la tendencia de LUMINOSIDAD de acuerdo a los días de evaluación.



Los valores de L tienen un rango 0 a 100, se considera oscuro (0-50) y claro (51-100). El oscurecimiento de la pulpa de aguacate a través del tiempo, se observó con mayor significancia en muestras de control estando a un pH de 6.8 cercano al neutro. Se observaron reducciones de 20 a 18% en la luminosidad después de 6 horas en los tratamientos sin semilla (control), 16-14% en muestras con 10 y 5g de semilla respectivamente. Según (Villalobos, 2006) el color de los alimentos se debe a diferentes compuestos, principalmente orgánicos o a pigmentos naturales.

Los valores de a^* representan rojo (valores positivos) y verde (valores negativos). Al iniciar el estudio se observó diferencia significativa entre los tratamientos, siendo el control y aplicación de 5g más cercano al cero (más rojizo). En cada tiempo hubo diferencias estadística, siendo el control con valores altos (direccionándose al rojo) con un predio de 7% de diferencia a comparación del aplicado a 10g. El cambio de coloración de verde a rojo fue significativo en todos los tratamientos, siendo la pulpa sin semilla que marcó mayor diferencia con un 5% y 6% de cambio de coloración en pH 6.8.

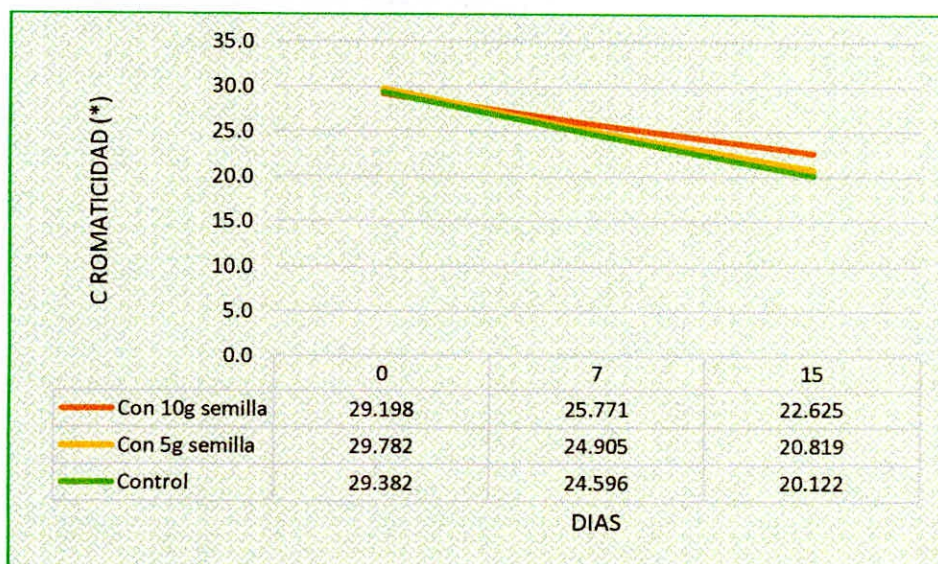
Estos valores b^* representan la escala de amarillo (valores positivos) contra azul (valores negativos). El color de la pulpa desde el inicio del estudio, marcó diferencia los tratamientos que tenían tegumentos en las dos formas. Al final del estudio las muestras sin semilla y pH 6.8 cambios 19% de su coloración. Todos

los tratamientos con semilla no presentaron cambios significativos de coloración durante las seis horas. Cuando los alimentos son sometidos a tratamientos térmicos generan tonalidades que van desde un amarillo ligero hasta un intenso café, mediante las reacciones de Maillard (Braverman, 1988; Yaylan, 1990) y de caramelización, en otras ocasiones, los pigmentos que contienen se alteran y cambian de color.

Índice de cromaticidad: indica el grado de desviación de gris hacia cromática pura de color. La degradación del color de la pulpa se observó más afectado en el control pH 6.8, no a si los de la pulpa con semilla (Grafico 13). Este índice se obtuvo con esta fórmula:

$$a^2 + b^2 = c^2$$

GRAFICA 13: Grafica de Índice de Cromaticidad



CAPITULO VI

CONCLUSIONES

- La actividad antioxidante total de la harina de semilla de *Persea americana* Mill. Var. Hass fuerte demostró ser muy elevada cuando se evaluó con el radical hidrofílico ABTS con un resultado de 25250.6 μmol de Trolox E/100g.
- Se concluye que el extracto de polifenoles con un 182.595 mg ac. Gálico/100g; obtenidos con el radical Folin Ciocalteu evaluadas por el instituto de certificación de la UNALM no son significativos en la aplicación de la pulpa y aceite de palta.
- Se evidencio después de 15 días de almacenamiento, el pardeamiento de la pulpa (control) fue más rápida con un $L^*43.9$, siendo más oscuro que la pulpa aplicada con 10g de semilla con un $L^* 49$.

CAPITULO VII

RECOMENDACIONES

Se proponen las siguientes recomendaciones:

- Evaluar de forma profunda los extractos etanólicos de la semilla de aguacate como antioxidante natural en la pulpa.

- Evaluar otras variedades de palta y los posibles antioxidantes de sus semillas con el fin de aportar información relevante al sector alimentario, dando un valor agregados a los subproductos.

- Realizar investigaciones para verificar la variación del contenido de ácidos grasos a profundidad en el aceite de semilla post estadio E-M3 (maduro) y bajo condiciones de oscuridad/luz, temperatura y humedad, controladas.

- Se sugiere diseñar productos suplementos nutricionales, como los extruidos afín de aprovechar la presencia de fitosteroles (como, el β - sitosterol) orientado al consumo simultáneo con los alimentos por parte de pacientes hipercolesterolémicos, pues actuando como anti nutrientes bloquean la absorción del colesterol procedente de la dieta.

CAPITULO VIII

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- AVOCADO OIL CHILE. 2012. *Beneficios para la Salud*. Consulado <<http://avocadooilchile.cl/es/aceite-de-palta/beneficios-para-la-salud.html>>.
- ASAOLU MF, ASAOLU SS, OYEYEMI AO, ALUKO BT. 2010. Hypolipemic effects of methanolic extract of *Persea americana* seeds in hypercholesterolemic rats. *J Med Medical Sciences*, 1(4):126–128.
- ASAOLU MF, ASAOLU SS, FAKUNLE JB, EMMAN-OKON BO, AJAYI EO, TOGUN RA. 2010. Evaluation of in vitro antioxidant activities of methanol extracts of *Persea Americana* and *Cnidoscylus aconitifolius*. *Pak J Nutr*, 9:1074–1077.
- AGUILERA J, SALAZAR S. 1991. The avocado industry in Michoacan, México. *South African Avocado Growers. Association Yearbook*; 14: 94-97.
- ACOSTA MC. 2011. Evaluación y escalamiento del proceso de extracción de aceite de aguacate utilizando tratamiento enzimático. [Tesis de Magister en Ingeniería Química]. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia.
- AOAC Official Method of Analysis Association of Official Analytical chemists. 1997. 15th William Horwits, Washington D.C. EUA.
- ARIZA A, VALDEZ LF, COYOTL HJ. 2011. Effect of different extraction methods on the fatty acid profile in the avocado (*Persea americana* Mill. Var. *Hass*). *Revista venezolana de ciencia y tecnología de alimentos*; 2(2): 263- 276.
- ANDERSON E, CABRERA S, LOZANO R, GONZÁLEZ L. 2009. Efecto del consumo de aguacate (*Persea Americana* Mill) sobre el perfil lipídico en adultos con dislipidemia. *Anales Venezolanos de Nutrición*; 22 (2): 84-89.
- ARUKWE, U., B.A. AMADI, M.K.C. DURU, E.N. AGOMUO, E.A. ADINDU, P.C. ODIKA, K.C. LELE, L. EGEJURU, Y J. ANUKIKE. 2012. Chemical composition of *Persea Americana* leaf, fruit and seed. Nigeria. Vol 11. p 346-349.

- BRAND-WILLIAMS W, CUVELIER ME, BERSET C. 1995. Use of free a Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *Lebensmittell-Wissenschaft. Technologie. Food Science and Technology*; 28:25-30.
- BERGH B, ELLSTRAND N. 1986. Taxonomy of the Avocado. *California Avocado Society*. 70: 1.
- BRESSANI, R. 2009. La composición química, capacidad antioxidativa y valor nutritivo de la semilla de variedades de aguacate. Guatemala. Proyecto Fodecyt No 02-.2006.
- BERGH B. 1992. Nutritious value of avocado. *California. Avocado Society Book.*; 123-135.
- BARRIENTOS-PRIEGO A, LÓPEZ-LÓPEZ L. 1998. Memoria Fundación Salvador Sánchez Colin CICTAMEX S.C. Coatepec Harinas, México; p. 33.
- BERGH BO, TORRES AM, ZENTMYER GA, ELLSTRAND NC. 1989. Allozyme variation in relation to the systematics of *Persea americana* (Lauraceae). Publicación inédita.
- BEN-YA'ACOV A, SOLIS M, PERI E. 1995. Progress of the study of avocado genetic resources: The avocado genetic resources in Costa Rica. Program and Book of Abstracts of the World Avocado Congress III; October 22-27; Tel Aviv, Israel; 1995. p.109.
- BERNAL A, CIPRIANO A. 2008. Tecnología para el cultivo de Aguacate. Manual técnico 5 CORPOICA Centro de Investigación la Selva. Rionegro, Antioquia.; p. 241.
- BERLINER JA, HEINECKE JW. 1996. The role of oxidized lipoproteins in atherogenesis. *Free Radic. Biol. Med*; 20:707-727.
- BOROWSKA J. 2003. Fruits and vegetables as source of natural antioxidants. *Przemysl Fermentacyjny i Owocowo- Warzywny* 1, 11-12.
- BAUDI S. 1997. Química de los alimentos. México: Pearson Educación.

- FERREYRA R, SELLES V, MALDONADO P, CELEDÓN J, TORRES A. 2006. Efecto de la macroporosidad y atmósfera del suelo en el estado hídrico del palto. V Congreso Internacional de Ingeniería Agrícola; Mayo 9 – 12; Universidad de Concepción, Facultad de Ingeniería Agrícola - Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Centro Regional de Investigación Quilamapu, Chillán, Chile; 2006 p. 208.
- GUERRERO T, NIEVES B, BARRIGA F, AGUIRRE S, CORIA V. 2011. Recuperación de árboles de aguacate infectados con *Phytophthora cinnamomi* Rands bajo control biológico y químico. Memorias del VII Congreso Mundial del Aguacate. Cairns. Australia; p. 20-43.
- GARCÍA JA, RAMOS M, MORA J. 2009. Estructura de la semilla de aguacate y cuantificación de la grasa extraída por diferentes técnicas. Revista Chapingo. Serie horticultura 5:123-128.
- GONZALES ME, FORERO F, SANDOVAL A. 2010. Efecto del tratamiento enzimático de la extracción del aceite de aguacate. Ministerio de agricultura de Colombia. Asociación hortofrutícola de Colombia 2: 1-62.
- GUTTERIDGE JM, HALLIWELL B. 2000. Free radicals and antioxidants in the year 2000 – A historical look to the future. Ann. N. Y. Acad. Sci.; 899:136-147.
- GUPTA, M. 2005. Plantas medicinales iberoamericanas. Programa iberoamericano de ciencia y tecnología para el desarrollo (CYTED) 1º edición pp. 620.
- HARRIS WS, MOZAFFARIAN D, RIMM E, KRIS-ETHERTON P, RUDEL L L, APPEL LA et al. 2009. Omega-6 Fatty Acids and Risk for Cardiovascular Disease A Science Advisory From the American Heart Association. Nutrition Subcommittee of the Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism; Council on Cardiovascular Nursing; and Council on Epidemiology and Prevention. Circulation; 119: 902-907.
- HERNANDEZ, H. 2003. Antioxidantes en alimentos. Revista de salud pública y nutrición (RESPYN), 4(4).

- HOWARD LR, CLARK JR, BROWNMILLER C. 2003. Antioxidant capacity and phenolic content in blueberries as affected by genotype and growing season. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 83: 1238-1247.
- HORUBALA A. 1999. Antioxidant capacity and their changes in fruit and vegetables processing. *Przemysł Fermentacyjny Owocowo-Warzywny* 3, 30–31.
- IMAFIDON KE, AMAECHINA FC. 2010. Effects of aqueous seed extract of *Persea americana* Mill. (Avocado) on blood pressure and lipid profile in hypertensive rats. *Adv Biol Res*, 4(2):116–121.
- JIMÉNEZ ME, AGUILAR R, ZAMBRANO L. 2001. Propiedades físicas y químicas del aceite de aguacate obtenido de puré deshidratado por microondas. *Journal of the Mexican Chemical Society* 45(2): 89-92.
- KOPP L. 1966. A taxonomic revision of the genus *Persea* in the Western Hemisphere (Perseae-Lauraceae). *Memoirs of the New York Botanical Garden*; 14(1): 1-120.
- KRANL K, SCHLESIER K, BITSCH R, HERMANN H, ROHE M, BOHM V. 2005. Comparing antioxidative food additives and secondary plants products – use of different assays. *Food Chem*; 93:171-175.
- MATSUSAKA Y, KAWABATA J, TAKANORI K. 2003. Antioxidative constituents in avocado (*Persea americana* Mill.) seeds. *J Jap Soc Food Sci Technol*, 50(11):550–552.
- MEJÍA, A. 2010. Cadena Productiva del Aguacate en Colombia. Consejo Nacional del Aguacate. *Memorias del II Encuentro de la cadena productiva del aguacate*; Rónegro, Antioquia: Colombia; p. 1-30.
- MOSTACERO J. y col. 2011. *Plantas medicinales del Perú: Taxonomía, Ecogeografía, Fenología y Etnobotánica*. 1ª Edición. Lima: Fondo editorial de la Asamblea Nacional de Rectores.
- MORTON J. 1987. *Avocado: Fruits of warm climates*. Miami: Julia F. Morton.
- MARTÍNEZ JL. 2008. *Supercritical fluid extraction of nutraceuticals and bioactive compounds*. New York: Taylor & Francis Group: 440.

- MAZA Y SILIPÚ, SANTOS. 2008. Estudio de la Palta en el Perú y el mundo. Ministerio de agricultura del Perú. Lima: Dirección general de información agraria.
- MÉNDEZ A, FALQUÉ E. 2007. Effect of storage time and container type on the quality of extra virgin olive oil. *Food Control*; 18: 521–529.
- NWAOGU LA, ALISI CS, OJIAKO OA. 2008. Studies on the nutritional and phytochemical properties of *Persea americana* seed. *Bioresearch*; 6(1):320–322.
- NACZK M., SHAHIDI F, 2006. Phenolics in cereals, fruits and vegetables: occurrence, extraction and analysis. *J. Pharm. Biomed. Anal.*41:1523–1542.
- NORIEGA LM. 2013. Avizoran una sobreproducción de aguacate para 2014. El Sol de Toluca:<http://www.oem.com.mx/elsoldetoluca/notas/n2979991.htm>.
- OZDEMIR F, TOPUZ A. 2004. Changes in dry matter, oil content and fatty acids period. *Food Chemistry*. 86: 79-83.
- OLAETA JA, SCHWARTZ M., P. UNDURRAGA P, CONTRERAS S. 2012.Utilización de la semilla de palta (*persea americana* mill.) cv. hass como producto agroindustrial. INTEC-CHILE.
- OZDEMIR F, TOPUZ A. 2004. Changes in dry matter, oil content and fatty acids composition of avocado during harvesting time and post-harvesting ripening period. *Food Chemistry*; 86: 79-83.
- OCAMPO, L. 2009. El aguacate y sus conservantes. Informe final de proyectos de investigación. Centro formativo de Antioquia, pp.8.
- POKORNY J. 1987. Major factors affecting the autoxidation of lipids. *Autoxidation of Unsaturated Lipids*, Chan H W S (ed). London: Academic Press, 141-206.
- PERETTA, M. 2005. Reingeniería farmacéutica. Principios y protocolos de la atención al paciente. 2ª. Edición. Buenos Aires: Editorial médica panamericana.
- PAHUA M, ORTIZ A, CHAMORRO G, HERNÁNDEZ M, GARDUÑO L, NECOECHEA H, HERNÁNDEZ M. 2012. Hypolipidemic Effect of Avocado

- (*Persea americana* Mill) Seed in a Hypercholesterolemic Mouse Model. *Plant Foods Hum Nutr* 67:10–16.
- REQUEJO, AM.*et al.* 2003. Influence of nutrition on cognitive function in a group of elderly, independently living people. *European Journal of Clinical Nutrition* 57: 54–57.
 - RODRÍGUEZ-CARPENA JG, MORCUENDE D, ANDRADE MJ, KYLLI P, ESTÉVEZ M. 2011. Avocado (*Persea americana* Mill.) phenolics, in vitro antioxidant and antimicrobial activities, and inhibition of lipid and protein oxidation in porcine patties. *J Agric Food Chem*, 59(10):5625–5635.
 - ROJAS JM, PEÑUELA AE, ROCÍO C.; ARISTIZÁBAL GE, CHAPARRO MC. 2004. Caracterización de los productos hortofrutícolas colombianos y establecimiento de las normas técnicas de calidad. *Cenicafe, Chinchina*.163-178.
 - RATOVOHERY J, LOZANO Y. 1988. Fruit development effect on fatty acid composition of *Persea americana* fruit mesocarp. *J Agric Food Chem*. 36(29): 287-293.
 - RESTREPO AM, LONDOÑO J, GONZALES D, BENAVIDES Y, CARDONA B. 2012. Comparación del aceite de aguacate variedad Hass, cultivado en Colombia obtenido mediante fluidos supercríticos y métodos convencionales: una perspectiva desde la calidad. *Revista Lasallista de Investigación* 9(2): 151-161.
 - ROSENTHAL DL, NIRANJAN K. 2008. Aqueous and enzymatic processes edible oil extraction. United Kingdom: University of Reading - Department of Food Science and Technology; 64.
 - QUIÑONES M., M. MIGUEL Y A. ALEIXANDRE. 2012 Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular Madrid. *Nutr. Hosp.* vol.27 no.1
 - SIMIC MG. 1981. Free radical mechanism of antioxidation process. *J Chem Educ* (58): 125-31.

- SOONG YY, BARLOW PJ. 2004. Antioxidant activity and phenolic content of selected fruit seeds. *Food Chem*; 88(3):411–417
- SMITH CE. 1966. Archeological evidence for selection in avocado. *Economic Botany*; 20: 169-175.
- SHAHIDI F. 1997. “Natural antioxidants: a review “. *Natural antioxidants, chemistry, Health Effects, and applications*, Shahidi F Champaign, Illinois, AOAC Press 1-11.
- TAKENAGA F, MATSUYAMA K, ABE S, TORII Y, ITOH S. 2008. Lipid and fatty acid composition of mesocarp and seed of avocado fruits harvested at northern range in Japan. *J Oleo Sci*; 57(11):591–597.
- TURNER BL, MIKSIEK CH. 1984. Economic plant species associated with prehistoric agriculture in the Maya lowlands. *Economic Botany*; 38(2): 179-173.
- THOMAS RH, WOODS FM, DOZIER WA, EBEL RC, NESBITT M, WILKINS B, *et al.* 2005. Cultivar variation in physicochemical and antioxidant activity of Alabamagrown blackberries. *Small Fruits Rev* 4: 57-71.
- VALENZUELA B A, MORGADO T N. 2005. Las grasas y aceites en la nutrición humana: algo de su historia. *Rev Chil Nutr*; 32(2): 88-94.
- VALERI H. & F. GIMENO (1953). Estudio fitoquímico toxicológico de las frutas de aguacate (*Persea Americana*). *Rev. Medicina veterinaria y Parasitología* 131 -163.
- YEAN-YEAN S, BARLOW PJ. 2004. Antioxidant activity and phenolic content of selected fruit seeds. *Food Chem*, 88(3):411–417.
- WHITE PJ, XING Y. 1997. Antioxidants from cereals and legumes. *Natural’s antioxidants. Chemistry Health Effects and applications*. Shahidi F ed. Champaigns Illinois. AOCS Press, 25-63.
- WILLIAMS LO. 1977. The botany of the avocado and its relatives. Proc. 1st international Tropical fruit Short Course, The Avocado. University of Florida, Gainesville, Florida. USA. 9-15.

- WHILEY AW, CHAPMAN KR, SARANAH JB. 1988. Water loss by floral structures of avocado (*Persea americana* Mill.) cv. Fuerte during flowering. *Aust. J. Agric. Res.* 39:457-467.
- WANG W, BOSTIC TR, GU LW. 2010. Antioxidant capacities, procyanidins and pigments in avocados of different strains and cultivars. *Food Chem*;122(4):1193–1198.
- YANG M, KOO SI, SONG WO, CHUN OK. 2011. Food matrix affecting anthocyanin bioavailability: review. *Curr Med Chem.*; 18(2):291-300.
- SCALBERT A, ANDRES-LACUEVA C, ARITA M, KROON P, MANACH C, URPI-SARDA M, WISHART D. 2011 Databases on food phytochemicals and their health-promoting effects. *J Agric Food Chem.*; 59(9):4331-4348.
- NAMITHA KK, NEGI PS. 2010 Chemistry and biotechnology of carotenoids. *Crit Rev Food Sci Nutr.*; 50(8):728-760.

ANEXO

ANEXO 01

ANÁLISIS QUIMICO PROXIMAL DE MUESTRAS DE SEMILLA DE PALTA var. HASS

❖ Semillas deshidratadas.-

Semilla de palta	Muestras	Peso (g)	Porcentaje (%)
Semilla fresca	Muestra 1	907.96	100
	Muestra 2	914.1	100
Semilla deshidratada	Muestra 1	384.04	42.30
	Muestra 2	467.08	51.10



❖ Semillas molidas

Harina de semilla palta	Peso deshidratado (g)	Peso después de la molienda (g)
Muestra 1	384.04	383.79
Muestra 2	467.08	466.78



❖ Análisis químico proximal

Componentes	g/100 g de muestra de parte útil				
	M1	M2	M3	Promedio	D estándar
Humedad	48.64	51.06	47.08	48.93	2.01
Lípidos	2.812	2.469	2.656	2.65	0.17
Cenizas	1.02	0.965	0.989	0.99	0.03
Proteínas	3.831	3.485	3.652	3.66	0.17
Fibra	2.95	3.15	3.06	3.05	0.10
Carbohidratos	40.75	38.87	42.56	40.73	1.85

**ANÁLISIS FISICOQUIMICO - QUIMICO DE MUESTRAS DE SEMILLA DE
PALTA var. HASS**

Componentes	g/100 g de muestra de parte útil				
	M1	M2	M3	Promedio	D estándar
PH	6.51	6.74	6.38	6.54	0.18
°Brix	1.46	1.5	1.81	1.59	0.19
Índice refracción	1.335	1.472	1.386	1.40	0.07
% Acidez	0.211	0.119	0.192	0.17	0.05
Peróxidos	1.377	1.38	1.403	1.39	0.01



Medición PH



Medición Acidez



Medición de Peróxidos

ANEXO 02

ANÁLISIS DEL RENDIMIENTO DE % DE ACEITE DE MUESTRAS DE SEMILLA DE PALTA var. HASS POR DIFERENTE TIPO DE SOLVENTES

$$\% \text{Aceite P.F.} = \frac{EE \times (100 - \% \text{Humedad})}{\text{gr. materia seca}}$$

Dónde:

% Aceite P.F. = Porcentaje de aceite del fruto en base peso fresco.

EE = Peso del aceite extraído de la muestra deshidratada (Extracto etéreo).

Porcentaje de humedad = Porcentaje de humedad de la pulpa.

Gramos de materia seca = Gramos de pulpa seca a la que se le extrae el aceite.

❖ **Extracción por Hexano:**

Tº 50

Muestra	Gramos de materia Seca	% Humedad de la pepa de palta Hass	Peso del aceite extraído (EE)	Contenido de Aceite (%)
1	10.047	48.93	1.6682	8.48
2	10.056	48.93	3.1016	15.75
3	10.102	48.93	2.8757	14.54
PROMEDIO				12.92
DESVIACION ESTANDAR				± 3.896

Tº 60

Muestra	Gramos de materia Seca	% Humedad de la pepa de palta Hass	Peso del aceite extraído (EE)	Contenido de Aceite (%)
1	10.134	48.93	2.6781	13.50
2	10.204	48.93	2.8009	14.02
3	10.106	48.93	3.2901	16.63
PROMEDIO				14.71
DESVIACION ESTANDAR				± 1.677

❖ Extracción por Eter:

Tº 50

Muestra	Gramos de materia Seca	% Humedad de la pepa de palta Hass	Peso del aceite extraído (EE)	Contenido de Aceite (%)
1	10.107	48.93	4.4880	22.68
2	10.016	48.93	4.0825	20.82
3	10.029	48.93	5.1261	26.11
PROMEDIO				23.20
DESVIACION ESTANDAR				± 2.682

Tº 60

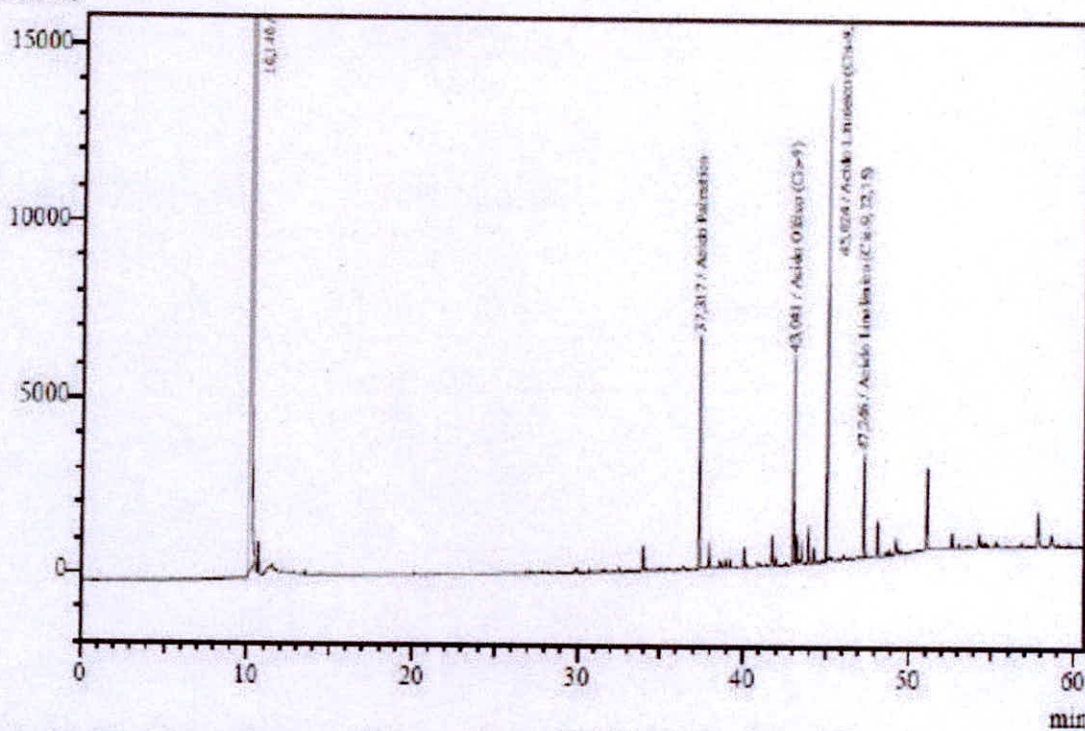
Muestra	Gramos de materia Seca	% Humedad de la pepa de palta Hass	Peso del aceite extraído (EE)	Contenido de Aceite (%)
1	10.108	48.93	3.3043	16.70
2	10.116	48.93	3.3699	17.01
3	10.128	48.93	4.4836	22.61
PROMEDIO				18.77
DESVIACION ESTANDAR				± 3.326

ANEXO 03

CROMATOGRAMAS DEL PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS DEL ACEITE DE SEMILLA DE PALTA var. HASS EXTRAIDO POR ÉTER Y HEXANO

Ácido Graso	Abreviatura	Hexano	Éter
Ácido Palmítico	C16:0	20.96%	26.45%
Ácido Oleico	C18:1	18.10%	16.89%
Ácido Linolèico	C18:2	48.77%	42.99%
Ácido Linolènico	C18:3	12.17%	15.86%

[Description]
muestra MA
Intensity



Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.	Unit Mark	ID#	Cmpd Name
1	10.140	149470900	61306895	0.000			
2	37.317	25150	6603	20.963 %		11	Acido Palmítico
3	43.041	22193	5826	18.099 %		16	Acido Oleico (Cis-9)
4	45.024	52340	13512	48.766 %		18	Acido Linoleico (Cis)
5	47.246	11476	2963	12.171 %		21	Acido Linolènico (C)
Total		149582059	61335799				

ANEXO 05

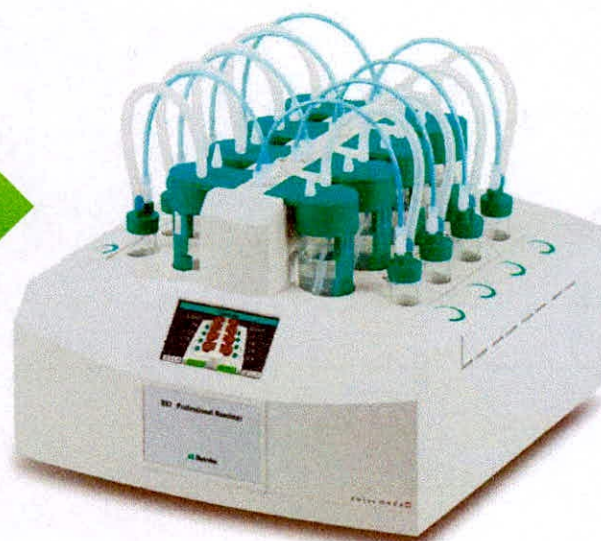
APLICACIÓN DE LA SEMILLA DE PALTA HAS COMO ANTIOXIDANTE NATURAL EN LA PULPA Y ACEITE DE PALTA.

- ❖ Prueba de estabilidad del aceite de semilla de *Persea Americana* var. *Hass*

Tiempo de Vida Útil (años)		
Temperatura (°C)	Aceite de palta con aplicación	Aceite de palta control
20	7.239	6.890
25	4.658	4.127
30	2.051	1.964



MUESTRAS DE ACEITE DE PALTA



❖ Determinación de color en la pulpa de palta de *Persea Americana* var. *Hass*

MUESTRA	DIAS											
	0				7				15			
	L*	a*	b*	C (Croma)	L*	a*	b*	C (Croma)	L*	a*	b*	C (Croma)
Con 10 g semilla	59.84	-4.16	28.9	29.198	53.9	-3.73	25.5	25.771	49.3	-1.06	22.6	22.625
Con 5g semilla	58.91	-4.09	29.5	29.782	47.1	-3.19	24.7	24.905	46.5	-0.9	20.8	20.819
Control	57.92	-4.06	29.1	29.382	46.7	-3.1	24.4	24.596	43.9	-0.94	20.1	20.122
Promedio	58.89	-4.10	29.17	29.45	49.23	-3.34	24.87	25.09	46.57	-0.97	21.17	21.19
Desv. Est.	± 0.96	± 0.05	± 0.31	± 0.30	± 4.05	± 0.34	± 0.57	± 0.61	± 2.70	± 0.08	± 1.29	± 1.29



ANALISIS DE COLOR



DIA 0