



UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA
SEDE CUENCA
CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA DE LOS
RECURSOS NATURALES

“DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE LA SEMILLA DE
AGUACATE (*Persea americana Mill*) COMO ALTERNATIVA DE CONSERVANTE
NATURAL DE ALIMENTOS”

Trabajo de titulación previo a la obtención del título de
Ingeniero en Biotecnología de los Recursos Naturales

AUTOR: XAVIER FERNANDO GARCÍA LEÓN

TUTORA: DRA. MYRIAM XIMENA MANCHENO CÁRDENAS, MGTR.

Cuenca - Ecuador

2022

**CERTIFICADO DE RESPONSABILIDAD Y AUTORÍA DEL TRABAJO DE
TITULACIÓN**

Yo, Xavier Fernando García León con documento de identificación N° 0107318222, manifiesto que:

Soy el autor y responsable del presente trabajo; y, autorizo a que sin fines de lucro la Universidad Politécnica Salesiana pueda usar, difundir, reproducir o publicar de manera total o parcial el presente trabajo de titulación.

Cuenca, 13 de septiembre del 2022

Atentamente,



Xavier Fernando García León

0107318222

**CERTIFICADO DE CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR DEL TRABAJO DE
TITULACIÓN A LA UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA**

Yo, Xavier Fernando García León con documento de identificación No. 0107318222, expreso mi voluntad y por medio del presente documento cedo a la Universidad Politécnica Salesiana la titularidad sobre los derechos patrimoniales en virtud de que soy autor del Trabajo Experimental: “Determinación de la capacidad antioxidante de la semilla de aguacate (*Persea americana Mill*) como alternativa de conservante natural de alimentos”, el cual ha sido desarrollado para optar por el título de: Ingeniero en Biotecnología de los Recursos Naturales, en la Universidad Politécnica Salesiana, quedando la Universidad facultada para ejercer plenamente los derechos cedidos anteriormente.

En concordancia con lo manifestado, suscribo este documento en el momento que hago la entrega del trabajo final en formato digital a la Biblioteca de la Universidad Politécnica Salesiana.

Cuenca, 13 de septiembre del 2022

Atentamente,



Xavier Fernando García León

0107318222

CERTIFICADO DE DIRECCIÓN DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Yo, Myriam Ximena Mancheno Cárdenas con documento de identificación N° 0602018160, docente de la Universidad Politécnica Salesiana, declaro que bajo mi tutoría fue desarrollado el trabajo de titulación: “DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE LA SEMILLA DE AGUACATE (*Persea americana Mill*) COMO ALTERNATIVA DE CONSERVANTE NATURAL DE ALIMENTOS”, realizado por Xavier Fernando García León con documento de identificación N° 0107318222, obteniendo como resultado final el trabajo de titulación bajo la opción de Trabajo Experimental que cumple con todos los requisitos determinados por la Universidad Politécnica Salesiana.

Cuenca, 13 de septiembre del 2022

Atentamente,



Dra. Myriam Ximena Mancheno Cárdenas, Mgtr.

0602018160

Dedicatoria

A mi abuelita, por el apoyo, paciencia y enseñanzas que me brindó durante esta etapa,

A mi madrecita por todo su esfuerzo, sacrificio y apoyo incondicional a todos mis sueños y esperanzas,

A mis hermanos que siguen mis pasos, como ejemplo de todos los errores y éxitos que se consiguen a lo largo de la vida,

A mis tíos por todos los consejos, toda la ayuda, todo el apoyo moral que hicieron que no me rinda y siga siempre hacia adelante

Con mucho cariño y aprecio, Xavier

Agradecimientos

A mi familia cercana,

 Mi mami, por siempre apoyarme, impulsarme y servirme de ejemplo para conseguir todo lo que yo me proponga,

 Mi abuelita, que siempre estuvo para mí desde el inicio de mi carrera apoyándome y motivándome siempre a avanzar,

 A mi tío Geovanny, que siempre me aconseja a seguir con paso firme y enseñándome que con trabajo duro y esfuerzo se puede conseguir todo,

 A mi tía Mariela que siempre con su calidez y apoyo me brindaron la fuerza necesaria para culminar mi carrera,

 A mi tío Christian, que siempre está para mí en cualquier situación, ayudándome, apoyándome a cumplir mis objetivos

 A mi tutora, Doctora Myriam Mancheno, por la paciencia, apoyo y seguimiento perpetuo a este trabajo

 A la Doctora Inés Malo, por toda su sabiduría, aprecio y su virtud de enseñar siempre de la mejor manera

Contenido

Resumen.....	13
Abstract.....	14
Capítulo 1.....	15
Introducción	15
1.1. Planteamiento del problema	16
1.2. Antecedentes.....	16
1.3. Justificación.....	18
1.4. Objetivos.....	18
1.4.1. Objetivo General	18
1.4.2. Objetivos Específicos.....	19
1.5. Hipótesis	19
1.6. Pregunta de investigación:	19
Capítulo 2.....	20
Bases teóricas.....	20
2.1. Características Botánicas del Aguacate.....	20
2.1.1. Valor Nutricional del Aguacate	21
2.2. Composición química de la semilla de aguacate.....	21
2.3. Capacidad antioxidante	22
2.3.1. <i>Antioxidante</i>	22
2.3.2. Radical Libre	22

2.3.3. Pruebas para determinar la capacidad antioxidante.....	22
2.3.3.1. Metodología DPPH	23
2.3.3.2. Método de Folin-Ciocalteu.....	23
2.3.4. Lixiviación	23
2.3.5. Liofilización	23
2.3.6. Conservantes de alimentos	24
Capítulo 3.....	25
Materiales y métodos	25
3.1. Población y muestra	25
Materiales.....	25
Métodos	26
3.2. Metodología DPPH	29
3.3. Método de Folin-Ciocalteu.....	32
Capítulo 4.....	38
Resultados y Discusión	38
4.1. Obtención de los antioxidantes de la semilla de aguacate mediante extracción por lixiviación.	38
4.2. Determinación la eficiencia en la extracción de antioxidantes mediante el tratamiento de secado de la semilla de aguacate	39
4.3. Comparación las propiedades antioxidantes de la semilla de aguacate y del ácido cítrico como conservantes, observando las cualidades organolépticas	

al ser aplicados en jugo de manzana.....	47
Interpretación de resultados de la encuesta realizada de características organolépticas.....	49
Discusión	65
Capítulo 5.....	67
Conclusiones y Recomendaciones.....	67
5.1. Conclusiones.....	67
5.2. Recomendaciones	68
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	68
Bibliografía	68

Índice de Figuras

<i>Figura 1 Valor Nutricional del Aguacate.....</i>	<i>21</i>
<i>Figura 2 Semillas cortadas en cuadritos antes de someter a liofilización</i>	<i>27</i>
<i>Figura 3 Semillas en cuadritos ya liofilizadas</i>	<i>27</i>
<i>Figura 4 Extracción del solvente por medio del Rotavapor</i>	<i>28</i>
<i>Figura 5 Filtración al vacío de los extractos obtenidos.....</i>	<i>28</i>
<i>Figura 6 Diagrama de lixiviación en una sola etapa.....</i>	<i>29</i>
<i>Figura 7 Extracción por lixiviación</i>	<i>29</i>
<i>Figura 8 Preparación de muestras para la toma de las medidas de absorbancia.....</i>	<i>30</i>
<i>Figura 9 Pesaje de las muestras de semilla sin liofilizar</i>	<i>31</i>
<i>Figura 10 Pesaje de las muestras de semilla sin liofilizar pesaje de las muestras liofilizadas de la semilla</i>	<i>31</i>

<i>Figura 11 Diagrama de flujo Cuantificación Fenoles en los extractos</i>	<i>32</i>
<i>Figura 12 Jugo de manzana con extracto triturado común.....</i>	<i>34</i>
<i>Figura 13 Jugo de manzana con extracto liofilizado común.....</i>	<i>34</i>
<i>Figura 14 Jugo de manzana con ácido cítrico</i>	<i>35</i>
<i>Figura 15 Jugo de manzana con extracto liofilizado propio</i>	<i>35</i>
<i>Figura 16 Comparación de jugos después de una hora de agregado el extracto correspondiente</i>	<i>36</i>
<i>Figura 17 Nomenclatura de jugos con extractos, un blanco y con ácido cítrico</i>	<i>36</i>
<i>Figura 18 Curva de calibración DPPH.....</i>	<i>40</i>
<i>Figura 19 Curva de calibración Folin Ciocalteu</i>	<i>41</i>
<i>Figura 20 Gráfica de caja y bigotes.....</i>	<i>45</i>
<i>Figura 21 Curva de distribución normal de los datos</i>	<i>45</i>
<i>Figura 22 Formato de Encuesta</i>	<i>48</i>
<i>Figura 23 Muestra TC - Color</i>	<i>49</i>
<i>Figura 24 Muestra TC - Olor.....</i>	<i>50</i>
<i>Figura 25 Muestra TC - Sabor</i>	<i>51</i>
<i>Figura 26 Muestra TC - Textura</i>	<i>52</i>
<i>Figura 27 Muestra TC - Aceptación.....</i>	<i>52</i>
<i>Figura 28 Muestra LC - Sabor.....</i>	<i>53</i>
<i>Figura 29 Muestra LC - Olor</i>	<i>54</i>
<i>Figura 30 Muestra LC - Sabor.....</i>	<i>55</i>
<i>Figura 31 Muestra LC - Textura.....</i>	<i>56</i>
<i>Figura 32 Muestra LC - Aceptación.....</i>	<i>56</i>
<i>Figura 33 Muestra TP - Color</i>	<i>57</i>

Figura 34 Muestra TP - Olor.....	58
Figura 35 Muestra TP - Sabor	59
Figura 36 Muestra TP - Textura	60
Figura 37 Muestra TP - Aceptación.....	60
Figura 38 Muestra LC - Color	61
Figura 39 Muestra TP - Olor.....	62
Figura 40 Muestra TP - Sabor	63
Figura 41 Muestra TP - Textura	64
Figura 42 Muestra TP - Aceptación.....	64

Índice de Tablas

Tabla 1 <i>Taxonomía del aguacate (Persea americana Mill)</i>	20
Tabla 2 <i>Materiales para la recolección y preparación de semillas de aguacate (Persea americana Mill)</i>	26
Tabla 3 <i>Preparación curva de calibración</i>	30
Tabla 4 <i>Preparación de la curva de calibración</i>	33
Tabla 5 <i>Nomenclatura de frascos</i>	33
Tabla 6 <i>Absorbancia de muestras obtenidas con la prueba DPPH</i>	39
Tabla 7 <i>Absorbancias obtenidas para la curva de calibración</i>	39
Tabla 8 <i>Concentración de muestras con respecto a la absorbancia</i>	41
Tabla 9 <i>Absorbancias obtenidas para la curva de calibración de Folin-Ciocalteu</i>	41
Tabla 10 <i>Análisis exploratorios de Absorbancias, valores de las réplicas y sus concentraciones</i>	43
Tabla 11 <i>Análisis exploratorios de Absorbancias, media y desviación estándar</i>	43

<i>Tabla 12 Análisis exploratorios de los tratamientos.....</i>	<i>44</i>
<i>Tabla 13 Prueba Anova.....</i>	<i>46</i>
<i>Tabla 14 Prueba de Tukey.....</i>	<i>46</i>

Resumen

Los avances tecnológicos en la industria de alimentos han otorgado grandes ventajas para la salud del ser humano, entre los que destaca el uso de antioxidantes como conservantes naturales ya que se pueden obtener beneficios nutricionales de los alimentos, además de hacerlos menos perecederos lo que impide que se generen pérdidas económicas, de ahí el propósito de la investigación de determinar la capacidad antioxidante de la semilla de aguacate (*Persea americana* Mills.) como alternativa de conservante natural dentro de la industria alimentaria. Para ello se extrajeron semillas de aguacate a las que se les separó la pulpa de forma manual y luego fueron lavadas con suficiente de agua hasta quedar completamente libre de pulpa, posteriormente se dejaron secar. La determinación de la capacidad antioxidante se realizó aplicando los métodos DPPH y Folin-Ciocalteu. La metodología empleada fue de tipo aplicada, con diseño experimental. En cuanto a los resultados, los mismos fueron analizados aplicando el análisis de varianza Anova de una (01) vía, obteniendo una diferencia estadísticamente significativa entre los grupos de tratamientos con un valor $p < 0.05$, con lo cual se rechaza la hipótesis nula, para determinar cuál de los grupos era diferente se aplicó la prueba post-hoc de Tukey, y se evidenció que únicamente el tratamiento de triturado común vs triturado propio no presentó diferencias estadísticamente significativas. Se puede concluir que una alta proporción de sustancias bioactivas, como los polifenoles, permanecen en las semillas de aguacate que son consideradas como residuos.

Palabras clave: *Persea americana* Mills, capacidad antioxidante y conservante natural.

Abstract

Technological advances in the food industry have provided great advantages for human health, among which the use of antioxidants as natural preservatives stands out, since nutritional benefits can be obtained from food, in addition to making them less perishable, which prevents them from economic losses are generated, hence the purpose of the research to determine the antioxidant capacity of the avocado seed (*Persea americana* Mills.) as an alternative natural preservative within the food industry. For this, avocado seeds were extracted from which the pulp was separated manually and then washed with enough water until completely free of pulp, then left to dry. The determination of the antioxidant capacity was carried out applying the DPPH, ABTS and Folin-Ciocalteu methods. The methodology used was of an applied type, with an experimental design. Regarding the results, they were analyzed by applying the one-way Anova analysis of variance, obtaining a statistically significant difference between the treatment groups with a value $p < 0.05$, with which the null hypothesis is rejected, for To determine which of the groups was different, Tukey's post-hoc test was applied, and it was shown that only the treatment of common crushing vs. own crushing did not present statistically significant differences. It can be concluded that a high proportion of bioactive substances, such as polyphenols, remain in avocado seeds that are considered as residues.

Keywords: *Persea americana* Mills, antioxidant capacity and natural preservative.

Capítulo 1

Introducción

La determinación de la capacidad antioxidante de la semilla de aguacate (*Persea americana Mill*) para una potencial alternativa de preservante natural, expone la posibilidad de plantear un sustituto natural de cualquier tipo de conservante sintético que podría no resultar beneficioso para el organismo, de tal manera que la dieta diaria se vería beneficiada. Además, la producción mundial de aguacate es sumamente alta, estimada en miles de millones de toneladas por lo que estaría al alcance y a un bajo costo en referencia a los conservantes artificiales. En la actualidad, esta semilla es considerada un residuo, tiene un peso equivalente al 15%-20% del peso total de la fruta, de allí la importancia de encontrar una aplicación para estos residuos sin valor aparente, ya que su disposición final no sería un problema ambiental, sino que podrían ser aprovechados al demostrar que puede dársele un uso, esto produciría un gran aporte y revolucionaría la industria alimentaria con respecto a la producción de preservantes.

Las diferentes técnicas que se utilizan para determinar la capacidad antioxidante que tiene un producto, están detalladas hace ya mucho tiempo por lo que se cuenta con metodologías establecidas y con valores referentes que permitirán conocer la validez de los resultados obtenidos, por lo tanto la aplicación de estas metodologías, tales como, cromatografía, DPPH, ABTS y Folin-Ciocalteu brindarán la confiabilidad de los datos a obtener en la investigación, de la misma forma que los modelos estadísticos empleados para corroborar la consistencia de la información obtenida durante el desarrollo de las pruebas en la investigación.

1.1. Planteamiento del problema

El país que lidera la producción y exportación de aguacate es México (*Persea americana* Mills.) con un total de 1,89 millones de toneladas en el año 2016 y con una producción estimada de 2,05 millones de toneladas para el año 2020. Según, Calzada (2017) y Barbosa-Martín et al. (2016), el peso de una semilla de aguacate oscila entre el 15-20% del peso total de la fruta y sin contar con la corteza de ésta, en el caso de que ambos subproductos se traten como desechos.

En el Ecuador a partir del 2002, se comenzó con el cultivo a gran escala de sembradíos de aguacate, pero fue en el año 2012 cuando los plantadores que se ocupaban del uso del recurso agrícola se dieron cuenta de las ventajas para exportación que ofrecía el aguacate (Álvarez, 2021), de allí que Ecuador, también posee la materia prima necesaria para el desarrollo de esta investigación.

Ahora bien, además de la cantidad de aguacate que se puede producir, su semilla posee propiedades antioxidantes y esto se debe “a la presencia de varios metabolitos secundarios como: taninos, polifenoles, triterpenos, ácidos grasos etc” (Osorio et al., (2014).

Actualmente, esta cualidad no es debidamente explotada ya que la fruta una vez consumida, frecuentemente las semillas se descartan sin darle ningún otro uso, o en el mejor de los casos se siembran, lo que no siempre da fruto.

1.2. Antecedentes

Primeramente, el aguacate por su contenido de ácidos grasos, cumple con los requisitos nutritivos en relación a la cantidad de grasa insaturada que aportan a la alimentación como detallan Pérez et al. (2005) en su artículo “*El aceite de aguacate y sus propiedades nutricionales*” señalando que la ingesta de esta fruta favorece a la salud de consumidores, previniendo problemas cardíacos.

Actualmente, los procesos de modernización necesitan generar menos desechos y

además obtener más ganancias, utilizando energía limpias, por lo que es de suma importancia que pueda aprovecharse de cada parte del producto empleado en determinado proceso, debido a lo mencionado el uso de semillas, cortezas e incluso la reutilización de aguas servidas deberían ser una prioridad, como lo explican Morais et al., (2015) señalando que los desperdicios resultantes al hacer uso de la pulpa aguacate, pueden ser empleados como materia prima para la elaboración de bienes lo que mejoraría los costos de los productos.

Con base en Escobar et al. (2019) en su estudio *“Influencia de la Materia Seca como Índice de Madurez de Cosecha y Tiempo de Almacenamiento en Frío sobre la Calidad del Aguacate cv. Hass Producido en la Región del Trópico Alto indica* necesidad de conocer el grado de madurez del aguacate al momento de cosecharlo, e incluso en la postcosecha, debido a que esta fruta cuando se considera fisiológicamente madura aún no es apta para su consumo, razón por la cual hay que separarla de la planta para que termine su ciclo de madurez.

Las técnicas empleadas en los análisis de capacidad anti-oxidativa son ciertamente diversas, al respecto Segovia, Corral & Almajano (2016) en la exposición de su trabajo *Avocado seed: Modeling extraction of bioactive compounds*, muestran la forma de obtener y medir las sustancias existentes en la semilla de aguacate.

Los antioxidantes obtenidos a través de procesos industriales, en los últimos tiempos se vienen utilizando en menor cuantía, esto se debe a que son sustituidos por los de origen orgánico, por los beneficios y poco rechazo que estos presentan, en contraposición con las alteraciones que algunos de estos productos sintéticos podrían ocasionar, en este sentido Hurkul et al. (2021) indican, que para precisar las cualidades antioxidantes a la semilla de aguacate se hace uso del FTIR y el cromatógrafo de gases acoplado a masas.

1.3. Justificación

Con esta investigación se pretende conocer la capacidad antioxidante de la semilla de aguacate (*Persea americana* Mills.) y que en lugar de desecharla como es práctica común, podría dársele un tratamiento adecuado para utilizarlas como materia prima en la elaboración de un preservante natural como lo explica Bressani et al. (2009), donde mencionan que los residuos industriales del sector alimentos serían favorecidos debido a que podrían tener un beneficio monetario de un producto secundario que actualmente es considerado como desperdicio.

Cabe mencionar, que el tratamiento de la pulpa de aguacate genera una gran cantidad de desechos orgánicos y aguas residuales, y al separar la semilla de la pulpa para su posterior tratamiento, se genera menos contaminación ambiental. Según Permal et al., (2020), la cantidad de residuos producidos por cada 1000 kg de frutas de aguacate procesadas es de aproximadamente 500 kg, de allí la relevancia de darle un segundo uso a estos residuos a nivel industrial.

El uso que se le podría dar a la semilla de aguacate como conservante, no muestra actualmente gran variedad de información bibliográfica, por lo que es necesario dar a conocer lo que la naturaleza brinda a través de este “residuo” subvalorado a nivel industrial, el cual podría reemplazar los preservantes sintéticos utilizados hoy en día en los alimentos, aprovechando la gran variedad de usos y beneficios que se pueden obtener a partir de los productos secundarios del aguacate, como por ejemplo la obtención de colorantes (Osorio et al., (2014).

1.4. Objetivos

1.4.1. Objetivo General

Determinar la capacidad antioxidante de la semilla de aguacate (*Persea americana* Mills.) como alternativa de conservante natural dentro de la industria alimentaria.

1.4.2. Objetivos Específicos

Obtener los antioxidantes de la semilla de aguacate mediante extracción por lixiviación determinando su rendimiento.

Determinar la eficiencia en la extracción de antioxidantes mediante el tratamiento de secado de la semilla de aguacate.

Comparar las propiedades antioxidantes de la semilla de aguacate y del ácido cítrico como conservantes, observando las propiedades organolépticas al ser aplicados en jugo de manzana.

Elaborar una propuesta de artículo científico respetando los formatos internacionales para la posible divulgación de los resultados obtenidos.

1.5. Hipótesis

Si lo extraído por lixiviación de la semilla de aguacate posee capacidad antioxidante, podría ser utilizado como conservante natural en la industria alimentaria.

Hipótesis Nula (H_0): La semilla de aguacate tiene propiedades antioxidantes, pero no puede usarse como preservante natural de alimentos.

Hipótesis Alternativa (H_1): La semilla de aguacate tiene propiedades antioxidantes, que puede usarse como preservante natural de alimentos.

Variable dependiente: Rendimiento de extracción, capacidad antioxidante

Variable independiente: Tratamientos de secado

1.6. Pregunta de investigación:

¿De qué manera se puede utilizar la capacidad antioxidante de la semilla de aguacate como una alternativa de preservante en la industria alimentaria?

Capítulo 2

Bases teóricas

2.1. Características Botánicas del Aguacate

Generalmente, la planta de aguacate (*Persea americana Mill*) alcanza los 20 m de alto y cuando se siembra con fines comerciales, su altura se conserva por debajo de los 5 m, a fin de poder brindar mejores cuidados a la planta. Este árbol de tronco grueso y hojas alargadas posee un follaje tupido por la cantidad de ramificaciones que desarrolla. Es un cultivo perenne ya que se puede sembrar en cualquier época del año (Pérez et al., (2015).

Las características visuales del aguacate son: forma de pera o de melocotón, color verde o violáceo oscuro, de cobertura rugosa y su pulpa de color verde amarillenta, posee una semilla muy grande en el centro. Se conocen cerca de 400 tipos diferentes, debido a esto sus formas y pesos pueden ser incomparables, pudiendo llegar a pesar desde 150 a 350 gr y en relación la semilla esta puede llegar a pesar del 15% al 20% del total del peso del fruto, dependiendo de su forma (Pérez et al., (2005).

Tabla 1

Taxonomía del aguacate (Persea americana Mill)

Taxonomía del Aguacate (<i>Persea americana Mill</i>)	
Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Lurales
Familia	Lauraceae
Género	Persea
Especie	Persea americanan Mill

Fuente: (Daiuto et al., (2014)

2.1.1. Valor Nutricional del Aguacate

	Por 100 g de porción comestible	Por ración (200 g)	Recomendaciones día-hombres	Recomendaciones día-mujeres
Energía (Kcal)	141	200	3.000	2.300
Proteínas (g)	1,5	2,1	54	41
Lípidos totales (g)	12	17,0	100-117	77-89
AG saturados (g)	1,41	2,00	23-27	18-20
AG monoinsaturados (g)	9,01	12,79	67	51
AG poliinsaturados (g)	1,04	1,48	17	13
ω -3 (g)*	0,046	0,065	3,3-6,6	2,6-5,1
C18:2 Linoleico (ω -6) (g)	0,986	1,400	10	8
Colesterol (mg/1000 kcal)	0	0	<300	<230
Hidratos de carbono (g)	5,9	8,4	375-413	288-316
Fibra (g)	1,8	2,6	>35	>25
Agua (g)	78,8	112	2.500	2.000
Calcio (mg)	16	22,7	1.000	1.000
Hierro (mg)	0,7	1,0	10	18
Yodo (μg)	2	2,8	140	110
Magnesio (mg)	41	58,2	350	330
Zinc (mg)	0,3	0,4	15	15
Sodio (mg)	2	2,8	<2.000	<2.000
Potasio (mg)	400	568	3.500	3.500
Fósforo (mg)	28	39,8	700	700
Selenio (μg)	Tr	Tr	70	55
Tiamina (mg)	0,09	0,13	1,2	0,9
Riboflavina (mg)	0,12	0,17	1,8	1,4
Equivalentes niacina (mg)	1,5	2,1	20	15
Vitamina B₆ (mg)	0,42	0,60	1,8	1,6
Folatos (μg)	11	15,6	400	400
Vitamina B₁₂ (μg)	0	0	2	2
Vitamina C (mg)	17	24,1	60	60
Vitamina A: Eq. Retinol (μg)	25	35,5	1.000	800
Vitamina D (μg)	0	0	15	15
Vitamina E (mg)	3,2	4,5	12	12

Tablas de Composición de Alimentos. Moreira y col., 2013. (AGUACATE). Recomendaciones: Ingestas Recomendadas/día para hombres y mujeres de 20 a 39 años con una actividad física moderada. Recomendaciones: Objetivos nutricionales/día. Consenso de la Sociedad Española de Nutrición Comunitaria, 2011. Recomendaciones: Ingestas Dietéticas de Referencia (EFSA, 2010). 0: Virtualmente ausente en el alimento. Tr: Trazas. *Datos incompletos.

Figura 1 Valor Nutricional del Aguacate

Fuente: (Bressani et al., (2009)

2.2. Composición química de la semilla de aguacate

Esta semilla posee una alta concentración de potasio y antioxidantes debido a la presencia de compuestos con elevado contenido de fenoles. Suministra un gran aporte de fibra y representa la materia prima de por ejemplo, aditivos alimentarios, a saber: antioxidantes, concentradores, pigmentos e inclusive como inhibidores del crecimiento de microorganismos

en los alimentos (Vivero et al., (2019).

2.3. Capacidad antioxidante

2.3.1. Antioxidante

Es una molécula capaz de retrasar o evitar la oxidación de otras moléculas, casi siempre en sustancias de origen biológico, tales como: grasas, proteínas ó ácidos nucleicos. La transformación de esas sustancias por la acción del oxígeno, puede ser llevada a cabo por moléculas generadas a partir del metabolismo fisiológico, como los radicales libres (Cañas-Gutiérrez et al., (2015).

2.3.2. Radical Libre

Desde la perspectiva química, son moléculas con al menos un electrón no apareado en su orbital periférico, estos a su vez pueden reaccionar con otras moléculas provocando su inestabilidad, además, se pueden presentar en forma autónoma (Vivero et al., (2019).

2.3.3. Pruebas para determinar la capacidad antioxidante

La metodología más utilizada son las pruebas de determinación de ABTS y DPPH. Estos dos métodos en ambientes controlados ofrecen buena estabilidad, a pesar de que en ocasiones puedan mostrar diferencias. La determinación del DPPH (radical libre) se puede realizar sin preparación previa, pero para determinar la capacidad antioxidante usando el método ABTS, se tiene que generar una reacción bien sea química, enzimática o electroquímica (Arellano et al., (2015).

El ABTS permite cuantificar la actividad de sustancias hidrofílicas y lipofílicas, en tanto que el DPPH únicamente se aplica en medio orgánico, y el DMPD solo en medio acuoso. El radical ABTS posee la ventaja en sus valores máximos de absorbancia a 414, 654, 754 y 815 nm en medio alcohólico, mientras que el DPPH presenta un solo máximo de absorbancia a 515 nm, y el DMPD a 505 nm (Kuskoski et al., (2006).

2.3.3.1. Metodología DPPH

La utilización del método DPPH está documentada desde la última década de los noventa, observándose en general que los investigadores no hacen uso de la misma proporción del DPPH en las disoluciones, dificultando poder realizar un análisis certero, teniendo en cuenta que los resultados prácticos son expresados como la medida de IC50, es decir, la concentración que es capaz de inhibir el 50% del radical libre DPPH (Guija et al., (2015).

2.3.3.2. Método de Folin-Ciocalteu

Este método está fundamentado en el análisis del contenido de fenoles en los alimentos. El reactivo de Folin-Ciocalteu contiene molibdato y tungstato sódico, que reaccionan con cualquier tipo de fenol, formando complejos fosfomolibdico-fosfotúngstico. Se ha observado una coloración azul intensa, cuando los compuestos fenólicos reaccionan con este reactivo a $\text{pH} > 7$, existiendo una correspondencia directa entre este color y el número de grupos hidroxilo de la molécula (Herrera, 2016).

2.3.4. Lixiviación

Es definida como el proceso a través del cual se extrae la fracción soluble luego del lavado de una materia triturada (Metodosdeseparaciondemezclas, 2020).

2.3.5. Liofilización

En la actualidad se ha avanzado en distintas formas de conservación de alimentos, una de estas técnicas es la liofilización, la cual permite ampliar la rentabilidad y a su vez disminuye la generación de desechos. La liofilización de alimentos consiste en congelar y sublimar a presión reducida los alimentos para disminuir la cantidad de agua que puedan contener a fin de aumentar el tiempo de conservación. Entre las principales propiedades de este proceso se puede mencionar: No poseen aditivos, conserva las características del alimento, se concentran los

antioxidantes (Virtual Kitchens, 2020).

2.3.6. Conservantes de alimentos

Los conservantes de alimentos son aditivos que se agregan a estos deliberadamente, en proporciones previamente determinadas, para conservar el valor nutricional del alimento y favorecer la lisis bacteriana o evitar su proliferación, ya que estos ocasionan el detrimento de los alimentos. Estos aditivos deben ser especificados químicamente y tener el aval toxicológico del país donde se van a utilizar (Martínez, 2020).

Capítulo 3

Materiales y métodos

La presente investigación es de tipo aplicada, ya que en la misma se propone remediar un problema, partiendo de la determinación de la capacidad oxidante de la semilla de aguacate con relación a un posible uso como preservante natural de alimentos; con respecto al nivel, es explicativo debido a que se logró establecer una relación entre los parámetros determinados en el laboratorio de la Universidad Politécnica Salesiana, sede Cuenca y la aplicación como conservante del producto analizado. Además, el diseño de la investigación es experimental, en virtud de que se manipularon las variables, a fin de comprobar si se cumplía la hipótesis de trabajo, o en caso contrario la hipótesis nula.

3.1. Población y muestra

La población estuvo conformada por las semillas de aguacate de la especie *Persea americana Mill*, y para la muestra, se utilizó un muestreo por racimos representado por: semillas desechadas en lugares donde se haya consumido la fruta (restaurantes) y semillas recolectadas por el investigador, en ambos casos, se le aplicará a un 50% de la muestra el proceso de liofilización, analizando en qué estado los extractos de estos tratamientos presentan mejores resultados.

Materiales

Para el procesamiento de las semillas de aguacate, a fin de conocer su capacidad antioxidante, se utilizaron los materiales y equipos señalados en la tabla 2.

Tabla 2 Materiales para la recolección y preparación de semillas de aguacate (Persea americana Mill).

Materiales:	Equipos
Embudos de decantación	Molino de corte
Placas de petri	Destilador por arrastre de vapor
Frascos ámbar 500 MI	Centrífuga
Matraz aforado	Balanza electrónica
Tubos cónicos	Liofilizador ALPHA 1-2 DLPLUS
Papel de aluminio	Rotavapor
Tamices	Espectrofotómetro JASCO V-630

Fuente: Autor

Métodos

Recolección y preparación de las muestras, que posteriormente serán alistadas para las pruebas de laboratorio, según Figueroa et al., (2018),

Para obtener la semilla del aguacate, esta se separa de la pulpa en forma manual y se lava con suficiente de agua hasta quedar completamente libre de pulpa, posteriormente se deja secar. Una vez secas, se cortan en rodajas para un mejor resultado y se selecciona al azar el 50% de las semillas que se les aplicará el proceso de liofilización con el fin de extraerle toda su humedad, por un período de 8 horas. Posteriormente, tanto las muestras liofilizadas como las no liofilizadas se muelen por separado, este material es almacenado y protegido de la luz solar hasta su análisis.



Figura 2 Semillas cortadas en cuadritos antes de someter a liofilización

Fuente: Autor



Figura 3 Semillas en cuadritos ya liofilizadas

Fuente: Autor

A continuación, se procede a extraer los antioxidantes de la semilla mediante el proceso de lixiviación, este se inicia moliendo y tamizando las semillas, seguidamente, a las cantidades obtenidas por cada malla del tamizador, se le agrega etanol al 96%, a todo el líquido captado de la lixiviación se lo lleva a recircular por la semilla triturada con el fin de extraer la mayor cantidad de antioxidantes luego es llevado al rotavapor para aislar el solvente de la muestra obtenida.



Figura 4 Extracción del solvente por medio del Rotavapor

Fuente: Autor



Figura 5 Filtración al vacío de los extractos obtenidos

Fuente: Autor

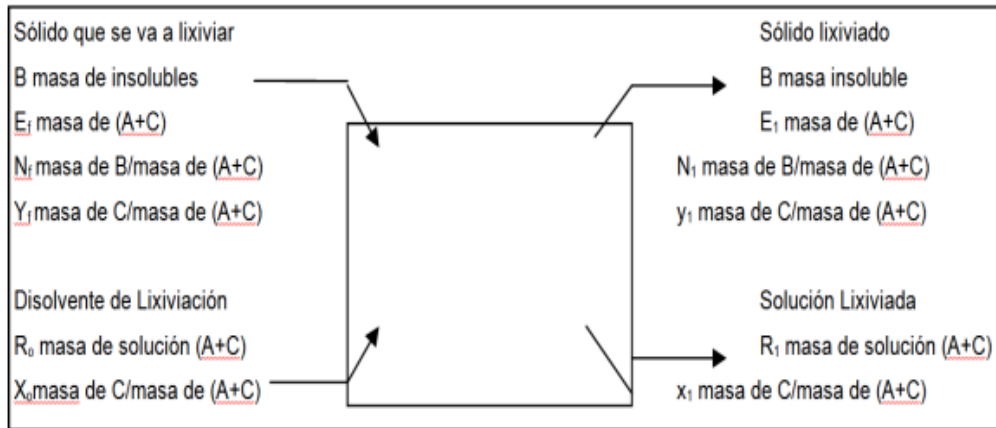


Figura 6 Diagrama de lixiviación en una sola etapa

Fuente: Autor



Figura 7 Extracción por lixiviación

Fuente: Autor

3.2. Metodología DPPH

Curva de Calibración: Se preparó una solución con 49 mg de reactivo DPPH disuelto en 250 mL de etanol al 96%.

Se preparó una solución patrón, disolviendo 25 mg de ácido cítrico en 25 mL de etanol

al 96% y se prepararon 8 soluciones para después obtener su absorbancia.

Tabla 3 Preparación curva de calibración

Solución	Ácido Ascórbico	Solución DPPH	Etanol 96%
Blanco	-	2.9 mL	100 uL
1	1 uL	2.9 mL	99 uL
2	5 uL	2.9 mL	95 uL
3	10 uL	2.9 mL	90 uL
4	20 uL	2.9 mL	80 uL
5	50 uL	2.9 mL	50 uL
6	80 uL	2.9 mL	20 uL
7	100 uL	2.9 mL	-

Fuente: Autor. *Nota:* Adaptado de (Alarcón, 2011)



Figura 8 Preparación de muestras para la toma de las medidas de absorbancia

Fuente: Autor

3.2.1. Preparación del radical DPPH

Se procedió a pesar 49 mg del radical aforado, previamente tarado y protegido contra la luz. Se disolvió en 250 mL de etanol al 96%. La solución se colocó en un mixer durante 20 minutos con la finalidad de lograr una adecuada disolución.



Figura 9 Pesaje de las muestras de semilla sin liofilizar

Fuente: Autor



Figura 10 Pesaje de las muestras de semilla sin liofilizar pesaje de las muestras liofilizadas de la semilla

Fuente: Autor

3.2.2. Análisis de la actividad antioxidante con la muestra de semilla de aguacate contra el radical DPPH. A 100 μ L de cada extracto de las semillas de aguacate, se les adicionaron 2.9 mL de la solución de DPPH, se agitó fuertemente manteniéndolas en la oscuridad por 2 horas.

Se registró la absorbancia a 517 nm. Los resultados se expresan en μmol equivalente de Ácido Ascórbico (ET)/g de muestra.

3.3. Método de Folin-Ciocalteu

Para este método, relativamente similar al de la prueba DPPH y ABTS pero en este caso se usa el reactivo Sigma Aldrich 2N, con una dilución en agua mili-Q 1:2 (es importante que el reactivo se mantenga refrigerado y protegido de la luz, hasta el momento del ensayo), es decir, 12,5 mL reactivo Folin-Ciocalteu en 25 mL de agua mili-Q colocado en un frasco ámbar. Al poner el reactivo a reaccionar con la muestra se pudo observar la porción que se necesita para inhibirlo, determinado así el contenido total de polifenoles.

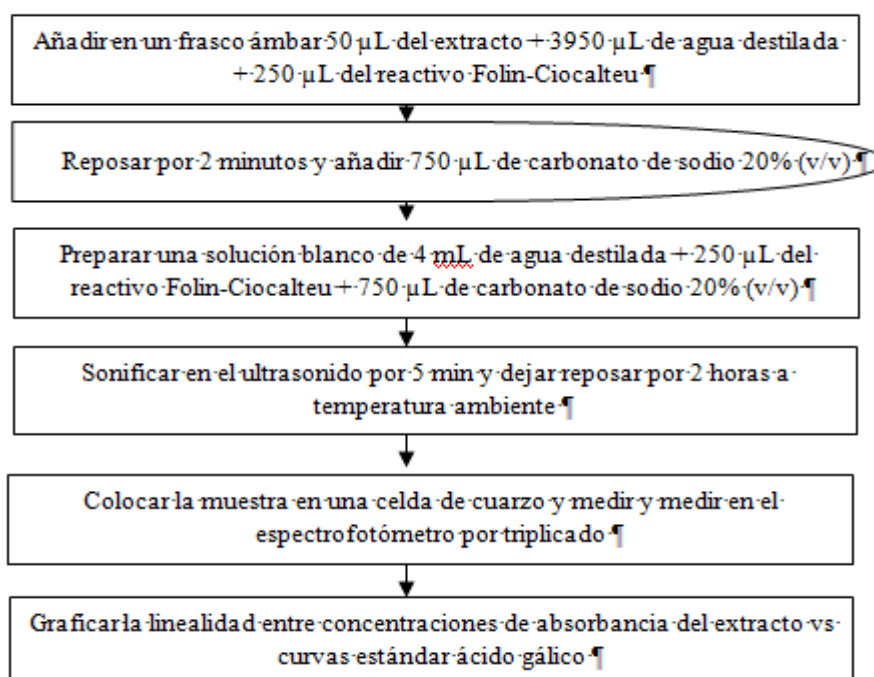


Figura 11 Diagrama de flujo Cuantificación Fenoles en los extractos

Fuente: Autor

3.3.1. Cuantificación de Fenoles

Se preparó una solución patrón de ácido gálico de 0,1 g/L, para ello se procedió a pesar una porción de 25 mg de ácido gálico, esta se colocó en un matraz aforado de 25 mL y se completó el volumen final con agua mili-Q (o de alta pureza). Al mismo tiempo, se preparó

una solución de carbonato de sodio (NaCO₃) al 20%.

Tabla 4 Preparación de la curva de calibración

Muestra	Ácido gálico (µL)	Reactivo de Folin- Ciocalteu (µL)
Blanco	0	250
1	10	250
2	20	250
3	30	250
4	40	250
5	50	250

Fuente: Autor

Seguidamente, se dejaron reposar las diluciones en la oscuridad, durante un lapso de 2 horas, aplicando una fuerte agitación cada 30 minutos. Las lecturas de las muestras se hicieron a una longitud de onda de 760 nm en un espectrofotómetro

3.4. Metodología para la prueba en productos perecederos

Adquirir muestras de jugo de manzana y preparar una muestra con la porción de la muestra triturada, el extracto obtenido por la lixiviación y una cantidad proporcional de ácido cítrico por un lapso de 24 horas y analizar los resultados de preservación en el alimento frente a otra muestra a la cual no se le ha agregado ningún preservante.

Tabla 5 Nomenclatura de frascos

Nomenclatura	Contenido del Frasco
TP	Jugo de manzana + Semillas sin liofilizar obtenidas de residuos caseros
TC	Jugo de manzana + Semillas sin liofilizar obtenidas como residuos de restaurantes
LP	Jugo de manzana + Semillas liofilizadas obtenidas de residuos caseros
LC	Jugo de manzana + Semillas liofilizadas obtenidas de residuos de restaurantes
AC	Jugo de manzana + ácido cítrico
-	Jugo de manzana



Figura 12 Jugo de manzana con extracto triturado común

Fuente: Autor



Figura 13 Jugo de manzana con extracto liofilizado común

Fuente: Autor



Figura 14 Jugo de manzana con ácido cítrico

Fuente: Autor



Figura 15 Jugo de manzana con extracto liofilizado propio

Fuente: Autor



Figura 16 Comparación de jugos después de una hora de agregado el extracto correspondiente

Fuente: Autor



Figura 17 Nomenclatura de jugos con extractos, un blanco y con ácido cítrico

Fuente: Autor

3.5. Técnicas de procesamiento y análisis de datos

Se realizó una prueba de contenido de polifenoles totales mediante el ensayo de Folin-Ciocalteu, y la medición de actividad antioxidante con la prueba de DPPH

Se analizó la capacidad de preservación basándose en características organolépticas en relación al tiempo y acción de las porciones en contacto con el extracto obtenido, así como con

la semilla liofilizada y molida y el ácido cítrico.

Con los resultados obtenidos de la exposición del jugo de manzana frente a los conservantes, se comparó y evaluó el rendimiento de cada uno.

Para el análisis estadístico se aplicó un diseño completamente al azar y se determinó cuál de los estados de la semilla y su tratamiento de secado es mejor en relación a la capacidad antioxidante que esta presenta. El test estadístico aplicado fue el análisis de varianza ANOVA, que es una técnica para análisis de datos, donde se prueban los tratamientos utilizados para recopilar los datos, al utilizar el diseño completamente al azar se obtuvieron las medias y sus varianzas y a través de este test se puede comparar las varianzas entre los promedios obtenidos (Amad, 2016).

Posteriormente, se le aplicó la prueba de Tukey que es un método que tiene como fin comparar los valores promedio de la información obtenida, y así poder valorar el cumplimiento de las hipótesis (Guerrero, 2013). Permitiendo establecer cuál es la influencia que tiene el lugar de donde se obtiene la semilla, y el tratamiento de secado adecuado a la cuál es sometida para actuar como conservante de alimentos y compararse con un conservante sintético como lo es el ácido cítrico.

Capítulo 4

Resultados y Discusión

4.1. Obtención de los antioxidantes de la semilla de aguacate mediante extracción por lixiviación.

La concentración de fenoles se relaciona con la cantidad de concentración equivalente de ácido gálico por gramo de muestra. No obstante, el reactivo de Folin-Ciocalteu, a pesar de ser el más comúnmente empleado para la determinación del contenido de polifenoles, puede reaccionar con compuestos no fenólicos, como el ácido ascórbico.

Previo al análisis de la capacidad antioxidante de la semilla del aguacate se establecieron cuatro tipos de muestras, triturado propio (M1), liofilizado propio (M2), triturado común (M3), y liofilizado común (M4).

En primer lugar, se determinaron los valores de rendimiento del lixiviado extraído, a continuación, se muestran los cálculos realizados para el rendimiento de la extracción por lixiviación.

$$\% \text{ rendimiento} = \frac{\text{masa de extracto seco (g)}}{\text{masa seca de harina de semilla (g)}} \times 100$$

En el caso de la masa de extracto seco, es medido al igual que el picnómetro

- Masa del picnómetro vacío= 13,7781 g
- Masa del picnómetro + H₂O= 18,7901 g
- Masa del picnómetro + extracto = 17,9432 g

Se obtuvo la densidad del extracto realizando el siguiente cálculo

$$\rho = \frac{17,9432 \text{ g} - 13,7718 \text{ g}}{5,012 \text{ ml}} = 0,831 \text{ g/ml}$$

$$\text{Masa de extracto seco} = 105 \text{ mL} * 0,831 \text{ g /1 mL} = 87,255 \text{ g}$$

Cabe mencionar que los 105 ml, es el volumen del líquido obtenido por roto

evaporación.

$$\% \text{ rendimiento} = \frac{87,255\text{g}}{114,5 \text{ g}} \times 100 = 76,205\%$$

4.2. Determinación la eficiencia en la extracción de antioxidantes mediante el tratamiento de secado de la semilla de aguacate

4.2.1. Metodología DPPH

Seguido, se aplicó la metodología DPPH, en este caso fue imprescindible la realización de una curva de calibración, cada una de las muestras fueron analizadas y medidas mediante absorbancia.

Tabla 6 Absorbancia de muestras obtenidas con la prueba DPPH

Muestras	Absorbancia
M1. Triturado propio	0.817
M2. Liofilizado propio	0.978
M3. Triturado común	0.841
M4. Liofilizado común	0.7772

Fuente: Autor

Tabla 7 Absorbancias obtenidas para la curva de calibración

Ácido ascórbico	Absorbancia
Blanco	3,495
1	3,143
2	2,805
3	2,48
4	2,089
5	1,645
6	1,434
7	0,856

Fuente: Autor

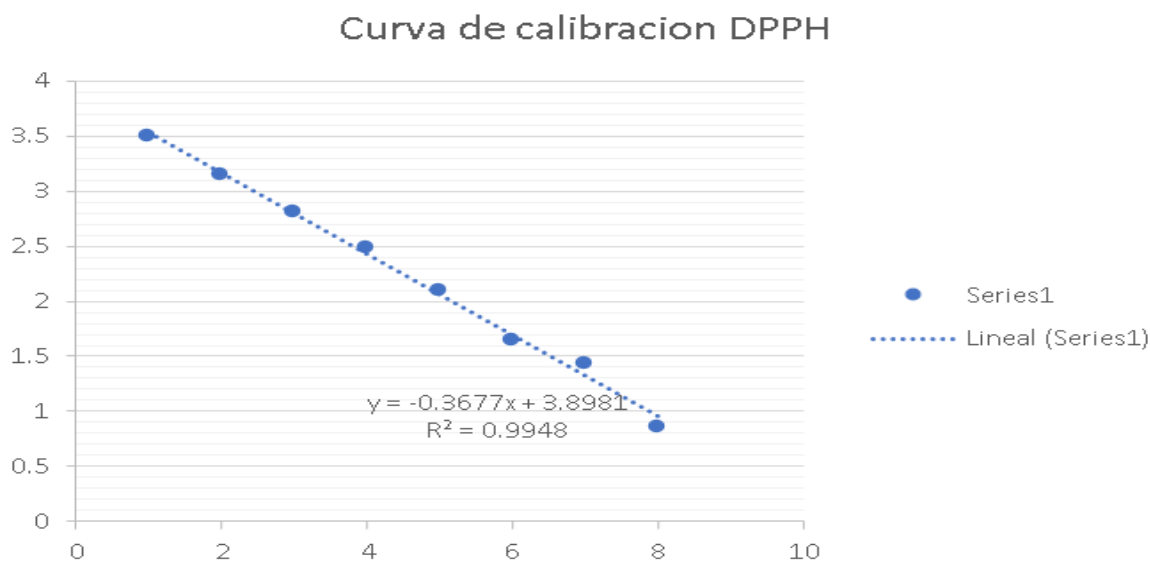


Figura 18 Curva de calibración DPPH

Fuente: Autor

El análisis de la actividad antioxidante con la muestra de semilla de aguacate contra el radical DPPH fue realizado mediante absorbancia. Se observó que el tratamiento de liofilizado en las semillas permitió disminuir la cantidad de agua contenida en estas, lo que conlleva a un incremento en el tiempo de conservación.

En estudio realizado por (UNIBE, 2022), utilizando la metodología DPPH, entre el ácido ascórbico y extracto de semilla de aguacate, se elaboraron las curvas de calibración para ambos casos, los valores de IC50 (el 50% de la concentración inhibitoria máxima, es decir, parámetro que utiliza para medir la capacidad inhibitoria de una sustancia sobre la evolución biológica), se obtuvieron los siguientes resultados: para el ácido ascórbico el IC50 fue de 3,20 mg/L y para la semilla de aguacate, se obtuvo 0,11 mg/L. Esto significa que el potencial antioxidante de la semilla de aguacate es siete (07) veces más elevado, esto se asocia al contenido de compuestos fenólicos, lo que es un gran aporte para futuros estudios de los efectos antioxidantes de la semilla de aguacate en el cuerpo humano.

4.2.2. Metodología Folin-Ciocalteu

Tabla 8 Concentración de muestras con respecto a la absorbancia

Muestras	Absorbancias	Concentración de las muestras (µg/ml)
M1. Triturado propio	0.894	18.747
M2. Liofilizado propio	1.811	38.15
M3. Triturado común	0.943	19.76
M4. Liofilizado común	1.595	33.58

Fuente: Autor

Tabla 9 Absorbancias obtenidas para la curva de calibración de Folin-Ciocalteu

Dilución	Absorbancia
10	0,0116
20	0,409
30	0,874
40	1,459
50	1,801

Fuente: Autor

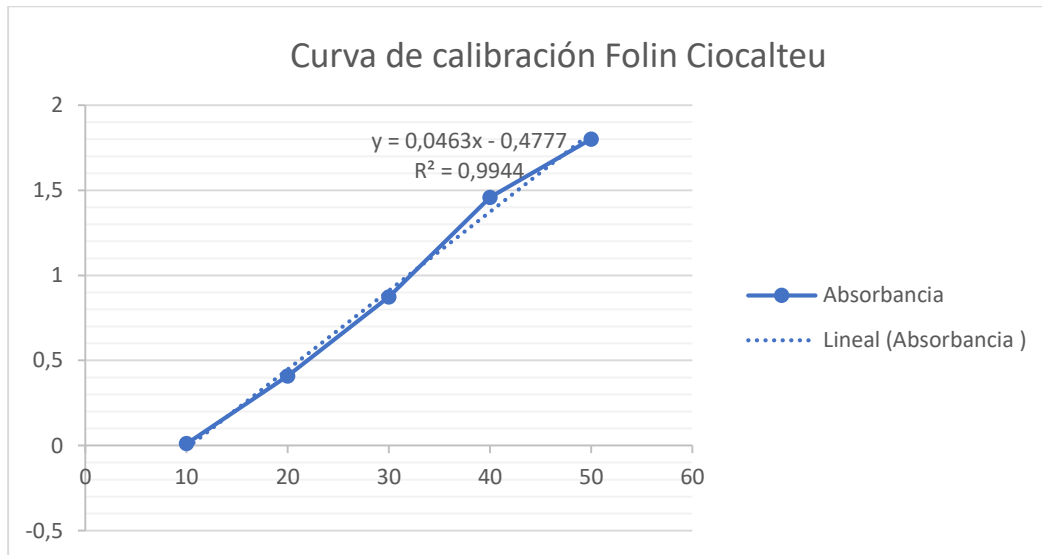


Figura 19 Curva de calibración Folin Ciocalteu

Fuente: Autor

La ecuación lineal de la absorbancia es: $y = 0,0463 x - 0,4777$; obtenida con la aplicación del software Minitab Statistical con un coeficiente de determinación $R^2 = 0,9944$, lo que indica que la ecuación se ajusta al modelo de los datos, debido a que se acerca a valor de uno (01), la utilidad de obtener la ecuación, radica en poder conocer para cualquier valor de dilución, la correspondiente absorbancia.

Similar investigación fue publicada por Bermúdez, Pacheco y Blanco (2020), utilizando un procedimiento por colorimetría de Folin Ciocalteu, donde prepararon diluciones de 50, 100,150, 200 y 250 $\mu\text{g/mL}$, partiendo de una solución patrón de ácido gálico con una concentración de 500 $\mu\text{g/mL}$, obteniendo una elevada concentración de compuestos fenólicos totales ($53,12 \pm 1.35$), presentes en las semillas de aguacate de la diversidad Fuerte y Hass. En investigación efectuada por Albarrán *et al.*, (2014), la cual tuvo como objeto realizar la evaluación de la actividad antioxidante de pulpa de varias frutas, donde estuvo contemplada la *Persea americana*, se encontró que la inhibición oxidativa y el aumento del crecimiento celular tenía una relación directa con la concentración de los compuestos fenólicos existentes en la muestra analizada.

4.2.3. Análisis Estadístico

Análisis exploratorios

Con la ayuda del software STATA 14.0 se realizaron los análisis estadísticos del presente estudio, con un α de 0.05, el cual funciona apropiadamente y un nivel de confianza al 95%. Un nivel de significancia de 0.05 indica un riesgo de 5% de concluir que existe una diferencia cuando no hay una diferencia real, este análisis exploratorio sirve para aceptar o rechazar la hipótesis nula

En primer lugar, se obtuvieron los promedios y la desviación estándar de las absorbancias de las muestras y sus réplicas (4), denominadas: E1 para la muestra M1 y así sucesivamente, como se muestra en la tabla 8, de estos valores se obtuvieron, el mínimo, el

promedio, el máximo y la desviación estándar, ver tabla 10.

Tabla 10 Análisis exploratorios de Absorbancias, valores de las réplicas y sus concentraciones

M1		M2		M3		M4	
E ₁₋₁ =0,872	C ₁₋₁ =18,57	E ₂₋₁ =0,9	C ₂₋₁ =37,30	E ₃₋₁ =0,922	C ₃₋₁ =19,20	E ₄₋₁ =1,52	C ₄₋₁ =32,90
E ₁₋₂ =0,877	C ₁₋₂ =18,60	E ₂₋₂ =1,25	C ₂₋₂ =37,42	E ₃₋₂ =0,925	C ₃₋₂ =19,35	E ₄₋₂ =1,5285	C ₄₋₂ =33,10
E ₁₋₃ =0,888	C ₁₋₃ =18,69	E ₂₋₃ =1,7	C ₂₋₃ =37,85	E ₃₋₃ =0,935	C ₃₋₃ =19,65	E ₄₋₃ =1,566	C ₄₋₃ =33,45
E ₁₋₄ =0,894	C ₁₋₄ =18,75	E ₂₋₄ =1,8	C ₂₋₄ =38,15	E ₃₋₄ =0,943	C ₃₋₄ =19,80	E ₄₋₄ =1,595	C ₄₋₄ =33,60
E _{1-PROM} =0,882	C _{1-PROM} =18,63	E _{2-PROM} = 1,6	C _{2-PROM} =37,54	E _{3-PROM} =0,928	C _{3-PROM} =19,50	E _{4-PROM} =1,537	C _{4-PROM} =33,30

A saber:

Muestra 1. Triturado propio,

De las réplicas realizadas a la muestra 1 (**E1**), el valor mínimo obtenido fue de 0,872, el valor promedio fue 0,882, el valor máximo de 0,894. Asimismo, se procesaron cada una de las cuatro (04) muestras y sus respectivas réplicas. Los valores máximos, mínimos y promedios, se muestran en la tabla 9 para un mejor entendimiento de los resultados, en la cual, se puede observar que el ensayo de absorbancia 2, **E2** fue el que obtuvo un mayor valor promedio (1,6) frente a los otros ensayos, al igual que la mayor desviación estándar (0,4), además, la concentración con mayor valor promedio (37.54), corresponde a la muestra 2.

Tabla 11 Análisis exploratorios de Absorbancias, media y desviación estándar

	E1	E2	E3	E4
MÍNIMO	0,872	0,9	0,922	1,52
PROMEDIO	0,882	1,6	0,928	1,537
MÁXIMO	0,894	1,8	0,943	1,595
N	5	5	5	5
sd	0,008	0,4	0,009	0,033

Fuente: Autor

*E= Número de réplica, sd= desviación estándar

En la tabla 12, se indican los análisis exploratorios de los tratamientos, se puede apreciar que el tratamiento trituración propia presentó el menor promedio 0.8857 y la menor desviación estándar en comparación con los otros tratamientos. Debido a que este estadístico es un indicativo de qué tan dispersos se encuentran los resultados obtenidos referidos al valor promedio, estos son los datos que muestran mayor consistencia (a menor desviación estándar, mayor consistencia). Sin embargo, es importante observar, que el mayor valor promedio lo muestra el tratamiento de Liofilización, con una desviación estándar baja, por lo que, para corroborar lo expuesto anteriormente se realizó el análisis de la normalidad con los datos de absorbancia y concentración de las muestras, obteniendo gráficas de cajas y bigotes (Gráfico 3) en donde se puede observar que el tratamiento de Liofilización propia presenta el mayor promedio de absorbancia.

Tabla 12 Análisis exploratorios de los tratamientos

Tratamientos	Promedio	DS	Frecuencia
Trituración propia	0.8857	0.0072	3
Liofilización propia	1.8063	0.0569	3
Trituración común	0.9327	0.1050	3
Liofilización común	1.5483	0.0407	3
Total	1.2933	0.4131	12

Fuente: Autor



Figura 20 Gráfica de caja y bigotes

Fuente: Autor

A continuación, se puede observar la gráfica 4 de distribución normal acorde al test de SHAPIRO WILK que mostró que el valor p es igual a 0,00765, ($P(x \leq 2,425) = 0,9923$). Así mismo, los supuestos de normalidad que incluyen la distribución de varianzas de Levene mostraron significancia de p mayor a 0.05, lo que representa una homogeneidad en las varianzas.

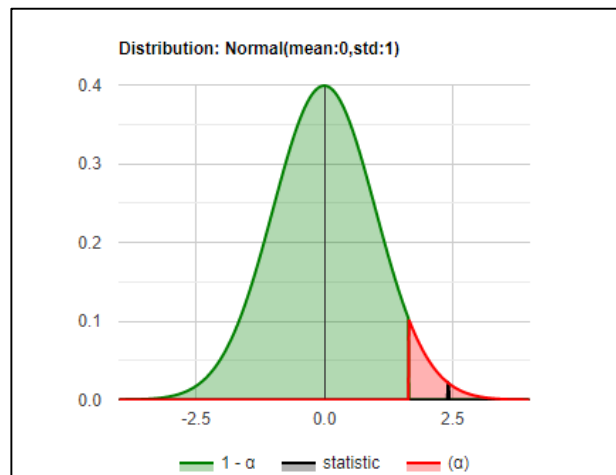


Figura 21 Curva de distribución normal de los datos

Fuente: Autor

Una vez determinada la normalidad de los datos del presente estudio, se procedió a determinar la eficiencia en la extracción de antioxidantes mediante los tratamientos de secado de la semilla de aguacate, para lo cual se aplicó Anova de una (01) vía, obteniendo una diferencia estadísticamente significativa entre los grupos de tratamientos, con un valor $p < 0.05$, con lo cual se rechaza la hipótesis nula en donde se establecía que no hay diferencias entre las varianzas medias de los grupos.

Tabla 13 Prueba Anova

Fuente	SS	df	MS	F	Prob>F
Entre grupos	1.873	3	0.624	1347.77	0.0001
Dentro de los grupos	0.004	8	0.000	--	--
Total	1.877	11	0.171	--	--

Fuente: Autor

Para determinar cuál de los grupos era diferente se aplicó la prueba post-hoc de TUKEY, y se evidenció que únicamente el tratamiento de triturado común (3) vs triturado propio (1) no presentó diferencias estadísticamente significativas. Por otra parte, los tratamientos de liofilizado común y propio si mostraron estas diferencias.

Tabla 14 Prueba de Tukey

	Contraste	Error Estándar	t	P> t
2 vs 1	0.92067	0.0176	52.38	0.000
3 vs 1	0.04700	0.0176	2.67	0.105
4 vs 1	0.66267	0.0176	37.7	0.000
3 vs 2	-0.87367	0.0176	-49.71	0.000
4 vs 2	-0.25800	0.0176	-14.68	0.000
4 vs 3	0.61567	0.0176	35.03	0.000

Fuente: Autor

En investigaciones previas, por ejemplo, la realizada por FODECYT (2006) afirman que la semilla reveló una elevada capacidad antioxidativa.

4.3. Comparación las propiedades antioxidantes de la semilla de aguacate y del ácido cítrico como conservantes, observando las cualidades organolépticas al ser aplicados en jugo de manzana.

Para hacer el jugo se pesaron 150 g de manzana en 200 mL de agua, más 15 mL de extracto y dos (02) cucharadas de azúcar blanca.

Para el jugo con ácido cítrico se pesaron 150 g de manzana en 200 mL de agua más 1g de ácido cítrico y dos (02) cucharadas de agua

Mediante color olor y sabor que se registró después de una hora de haberse añadido el extracto en los 4 jugos, se observó que solo uno de los 4, el que tenía el extracto liofilizado propio fue el que presentó retardo en la oxidación del jugo a diferencia de los demás, además esto se comparó con un jugo al que no se le agregó ningún extracto y con otro jugo al que se le añadió el ácido cítrico.

En cuanto al sabor se vio afectado debido al etanol que se utilizó como solvente para realizar la extracción por lo que daña las características organolépticas del jugo. El olor fue otro factor que se ve alterado debido a la interacción con el solvente por el fuerte olor que este aporta a la formulación del jugo.

Para profundizar más en el impacto del conservante en el jugo de manzana, se seleccionaron al azar 25 personas en rango de edades de 20 – 30 años, en la localidad de General Plaza, Limón Indanza, Morona Santiago, Ecuador, y se les pidió llenar una encuesta después de ofrecerles degustar el jugo con el conservante natural de semilla de aguacate y contrastar con el uso del conservante convencional de Ácido Cítrico.

El formato de encuesta empleado fue el siguiente:

Encuesta de características organolépticas del jugo de manzana en interacción con los extractos de semilla de aguacate obtenidos

Muestra _____

Objetivo

Comparar las propiedades antioxidantes de la semilla de aguacate y del ácido cítrico como conservantes, observando las propiedades organolépticas al ser aplicados en jugo de manzana.

Instrucciones:

- Pruebe el jugo con el conservante convencional (ácido cítrico)
- Enjuague su paladar con agua natural
- Pruebe el jugo con el conservante natural extraído de la semilla de aguacate

Características Organolépticas

1. Color
 - Claro
 - Característico
 - Oscuro
2. Olor
 - Nada perceptible
 - Poco perceptible
 - Perceptible
 - Muy perceptible
3. Sabor
 - Muy desagradable
 - Desagradable
 - No agrada ni desagrada
 - Agradable
 - Muy agradable
4. Textura
 - Poco líquida
 - Líquida
 - Normal
 - Espesa
 - Muy espesa
5. Aceptación
 - Prefiere el conservante convencional (Ácido Cítrico)
 - Prefiere el conservante natural (Extracto de semilla de aguacate)

Figura 22 Formato de Encuesta

Como se muestra en el formato de la encuesta esta contó con instrucciones para que los encuestados sigan el mismo proceso de prueba de muestras y el resultado sea lo más exacto.

Se recalca que el experimento tuvo 4 muestras, como las son TC (Triturado Común), LC (Liofilizado Común), TP (Triturado Propio), LP (Liofilizado Propio)

Interpretación de resultados de la encuesta realizada de características organolépticas

Muestra: Jugo de manzana + TC – Triturado Común

Color

- *Claro*
- *Característico*
- *Oscuro*

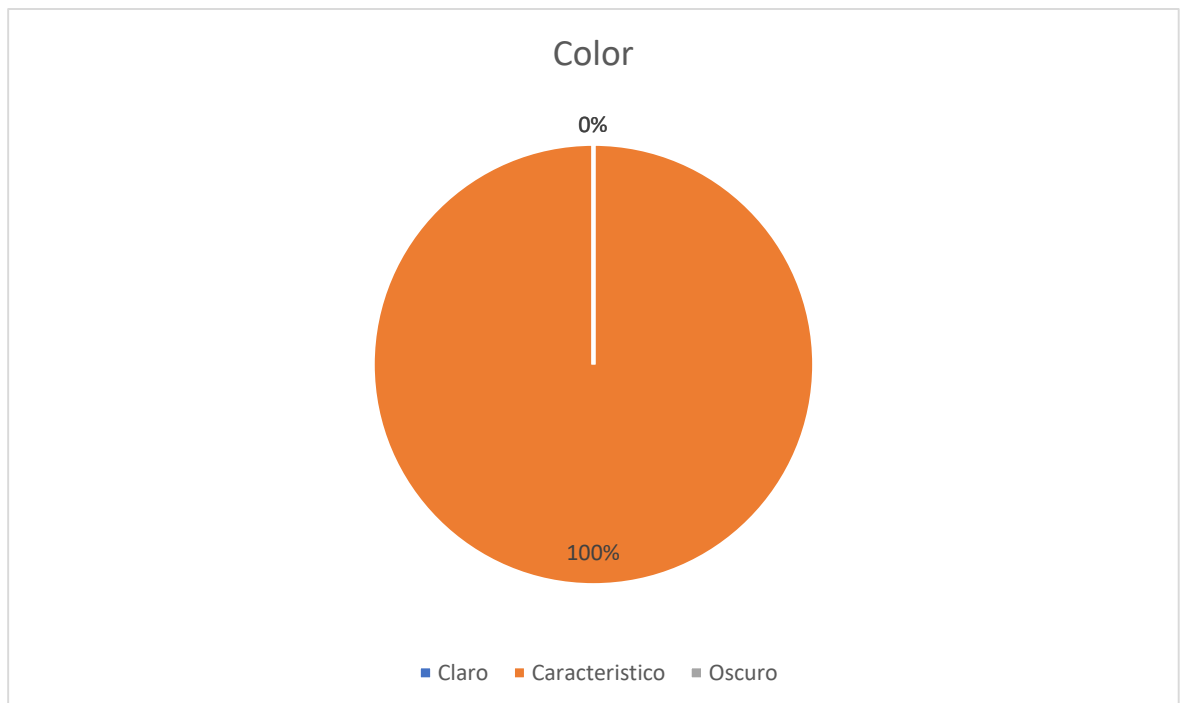


Figura 23 Muestra TC - Color

Para el jugo de manzana con el extracto de la semilla TC, el 100% de los encuestados concluyeron que el jugo tenía un color característico propio de la manzana natural, demostrando que la adición del extracto TC no cambia esta característica organoléptica,

Olor

- *Nada Perceptible*
- *Poco Perceptible*
- *Perceptible*
- *Muy Perceptible*

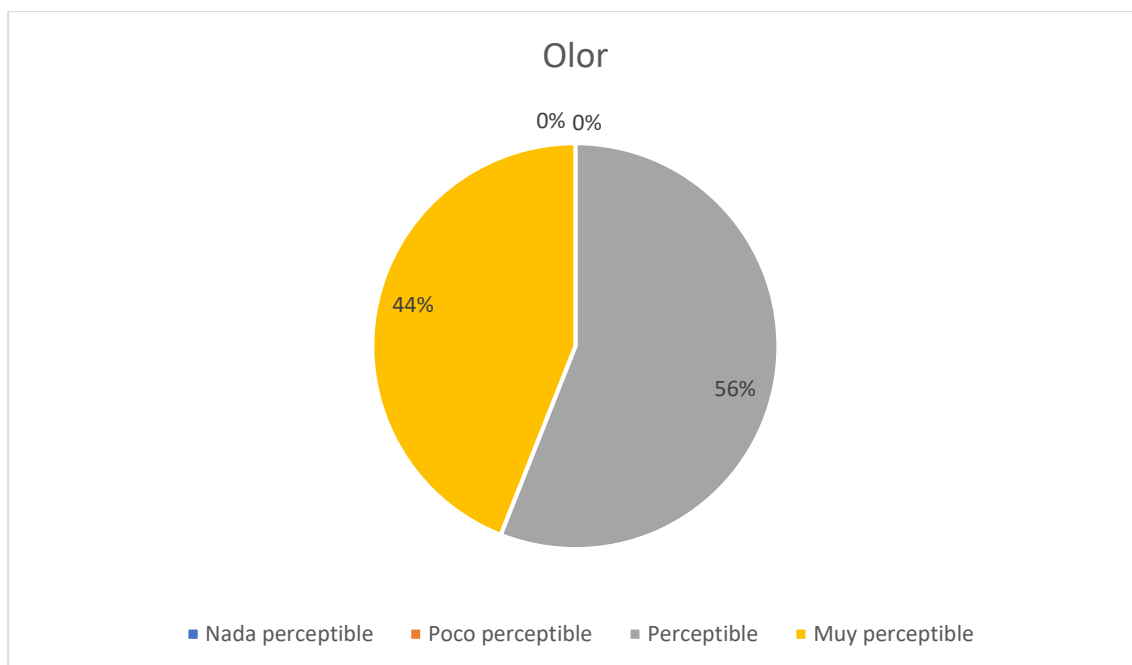


Figura 24 Muestra TC - Olor

Al observar el gráfico se concluye que la adición del extracto TC influye en un 44% encontró muy perceptible el olor y pudo resultar negativo en la opinión del extracto, mientras que al 56% del público entrevistado que percibió el olor no le resultó extraño.

Sabor

- *Muy desagradable*
- *Desagradable*
- *No agrada ni desagrada*
- *Agradable*
- *Muy agradable*

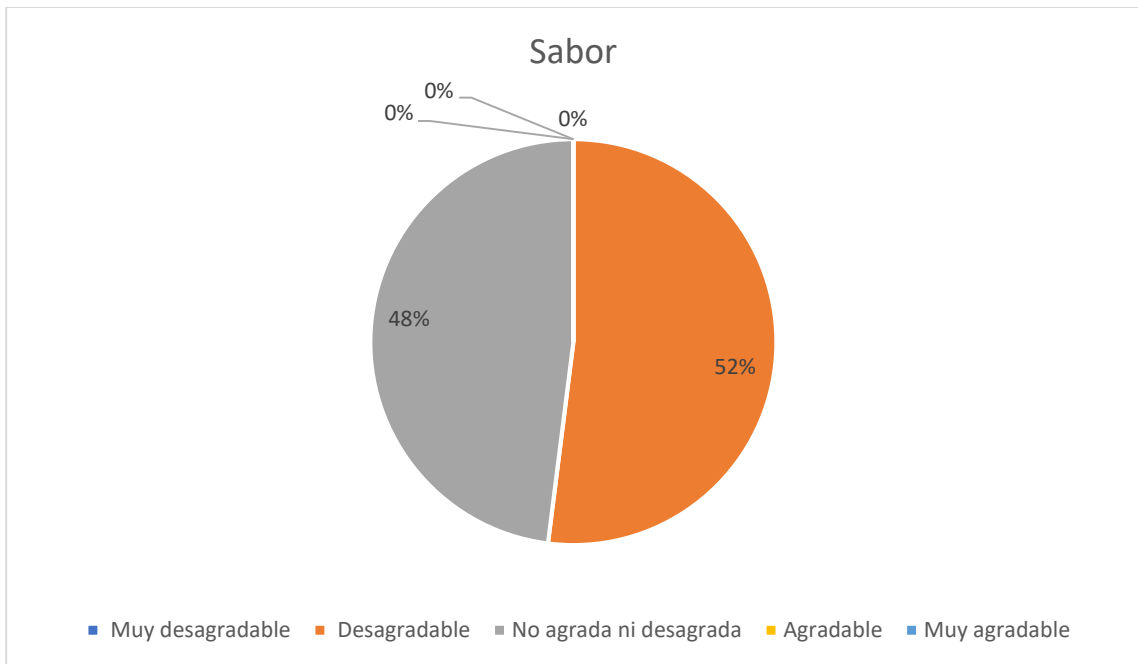


Figura 25 Muestra TC - Sabor

En cuanto al sabor del jugo con el extracto TC un 52% de los encuestados estuvo de acuerdo que tenía un sabor desagradable, y aun 48% no le afectó el sabor que el extracto pudo haberle brindado al jugo además de ya este poseer un sabor propio a manzana natural

Textura

- *Poco líquida*
- *Líquida*
- *Normal*
- *Espesa*
- *Muy Espesa*

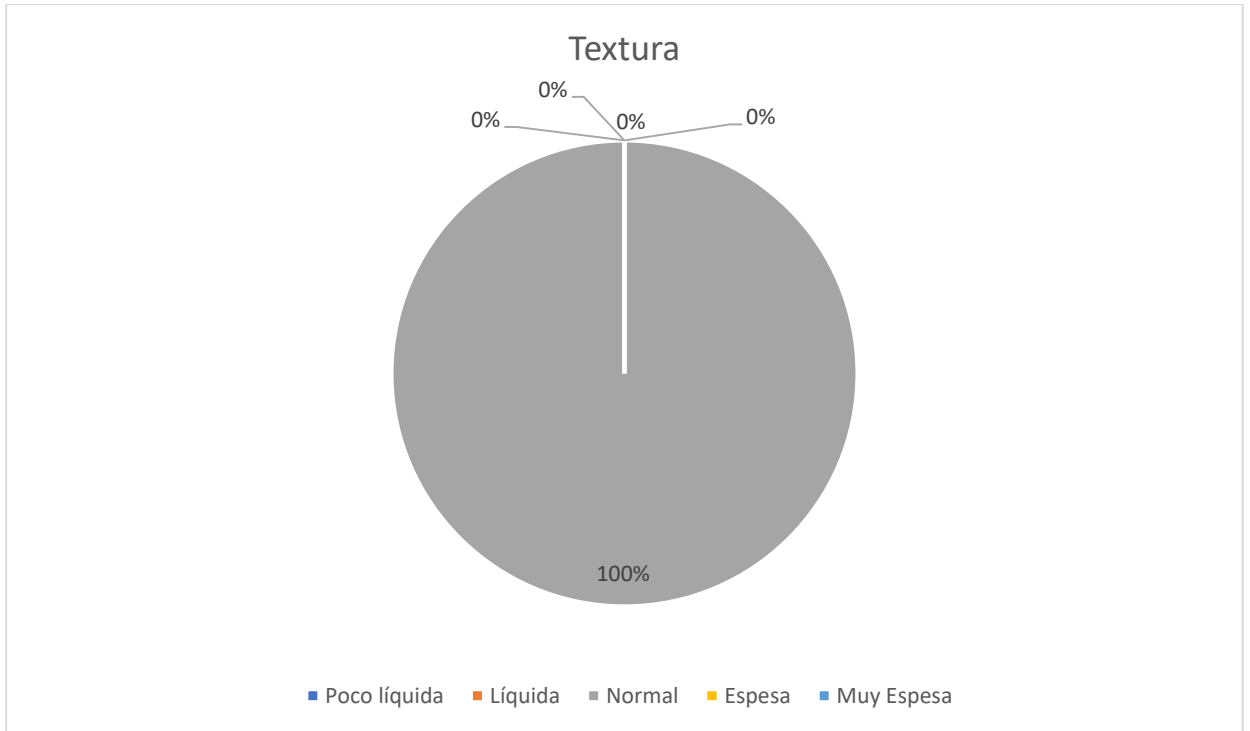


Figura 26 Muestra TC - Textura

Para el 100% del público la textura del jugo de manzana no se vio afectado por la adición de el extracto TC, presentado una textura normal e igual a la del jugo natural de manzana.

Aceptación

- *Prefiere el conservante convencional (ácido cítrico)*
- *Prefiere el conservante natural (Extracto de semilla de aguacate)*

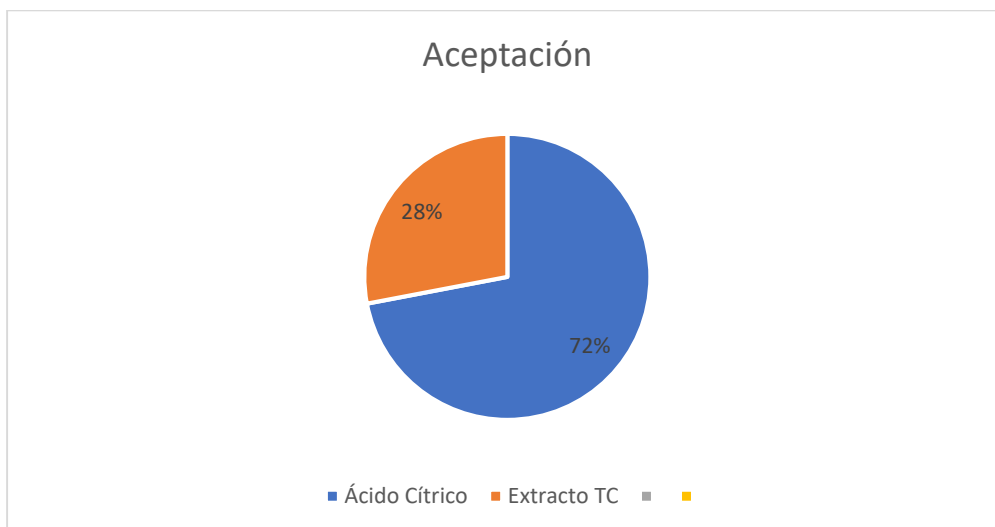


Figura 27 Muestra TC - Aceptación

En este caso para este extracto añadido al jugo de manzana tan solo un 28% de los encuestados respondieron que preferían el conservante obtenido a partir de la semilla de aguacate

Muestra: Jugo de manzana + LC (Liofilizado Común)

Color

- *Claro*
- *Característico*
- *Oscuro*

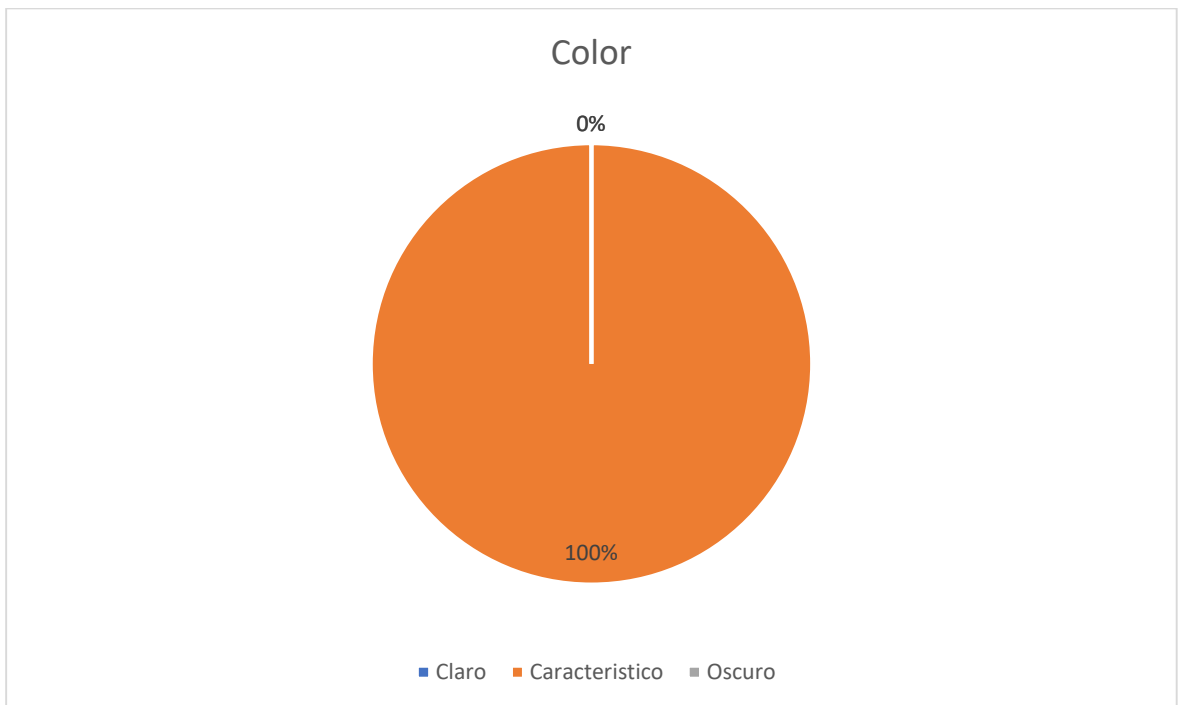


Figura 28 Muestra LC - Sabor

Para el jugo de manzana con el extracto LC, el 100% de los encuestados concluyeron que el jugo tenía un color característico propio de la manzana natural, demostrando que la adición del extracto LC no cambia esta característica organoléptica,

Olor

- *Nada Perceptible*
- *Poco Perceptible*
- *Perceptible*
- *Muy Perceptible*

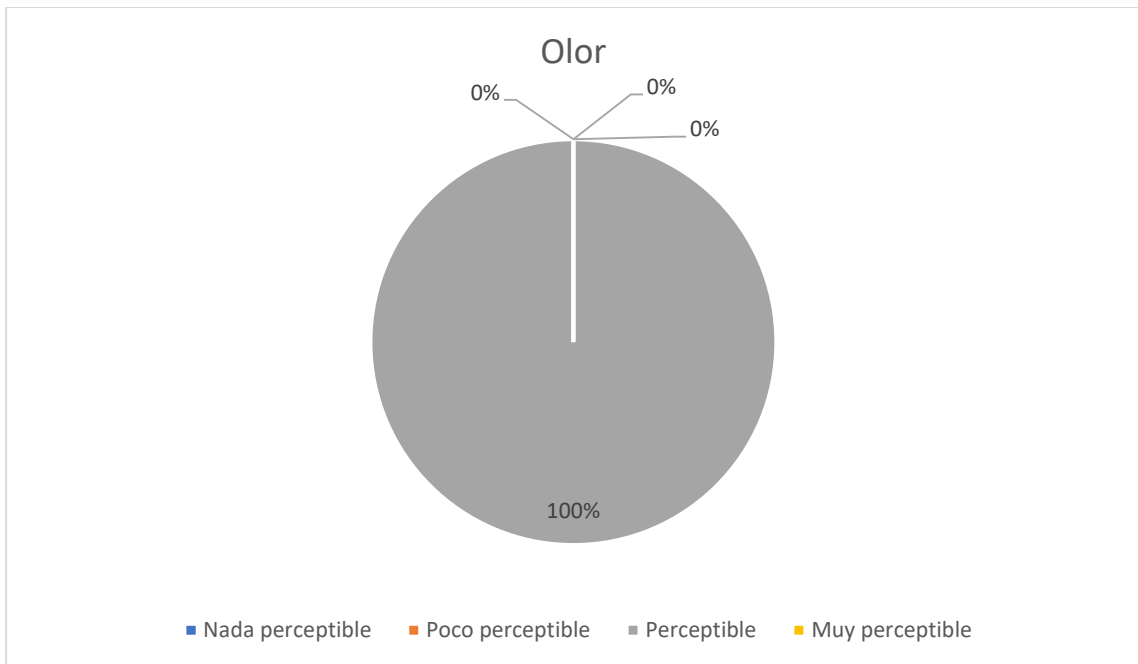


Figura 29 Muestra LC - Olor

Al observar el gráfico se concluye que la adición del extracto LC influye en el 100% de los encuestados puesto que en el jugo de manzana con el extracto LC el olor de este último se pudo percibir notoriamente

Sabor

- *Muy desagradable*
- *Desagradable*
- *No agrada ni desagrada*
- *Agradable*
- *Muy agradable*

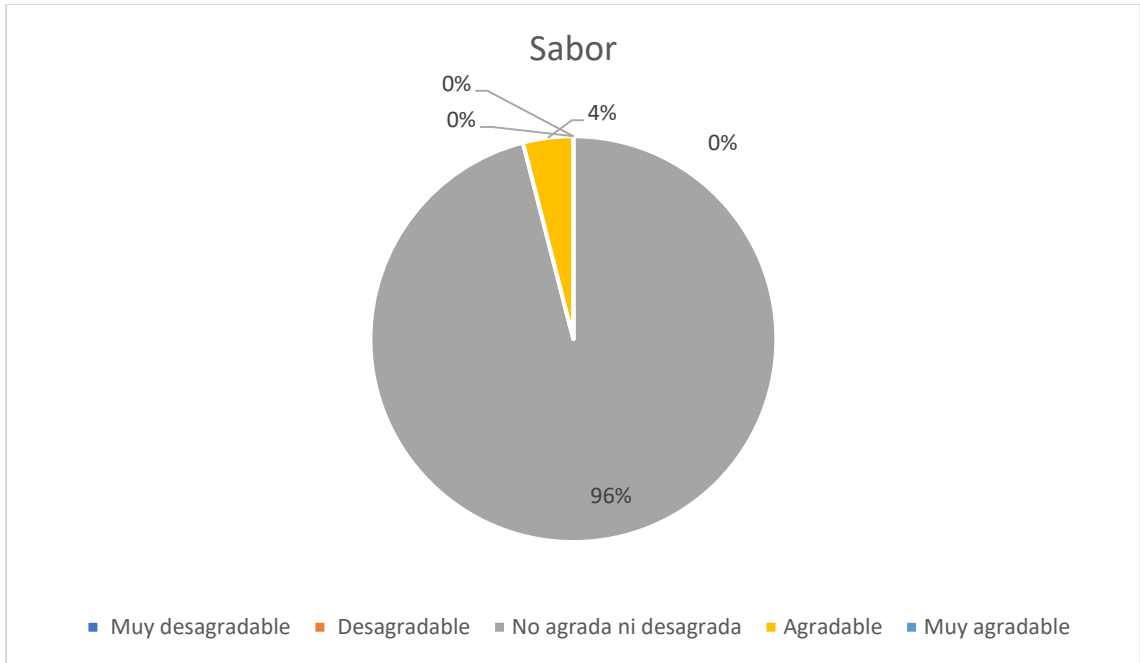


Figura 30 Muestra LC - Sabor

En cuanto al sabor del jugo con el extracto LC un 96% de los encuestados estuvo de acuerdo en que el conservante no aportaba un sabor específico al jugo, y con un 4% afirmó que el sabor se vio afectado por el extracto mejorando su sabor.

Textura

- *Poco líquida*
- *Líquida*
- *Normal*
- *Espesa*
- *Muy Espesa*

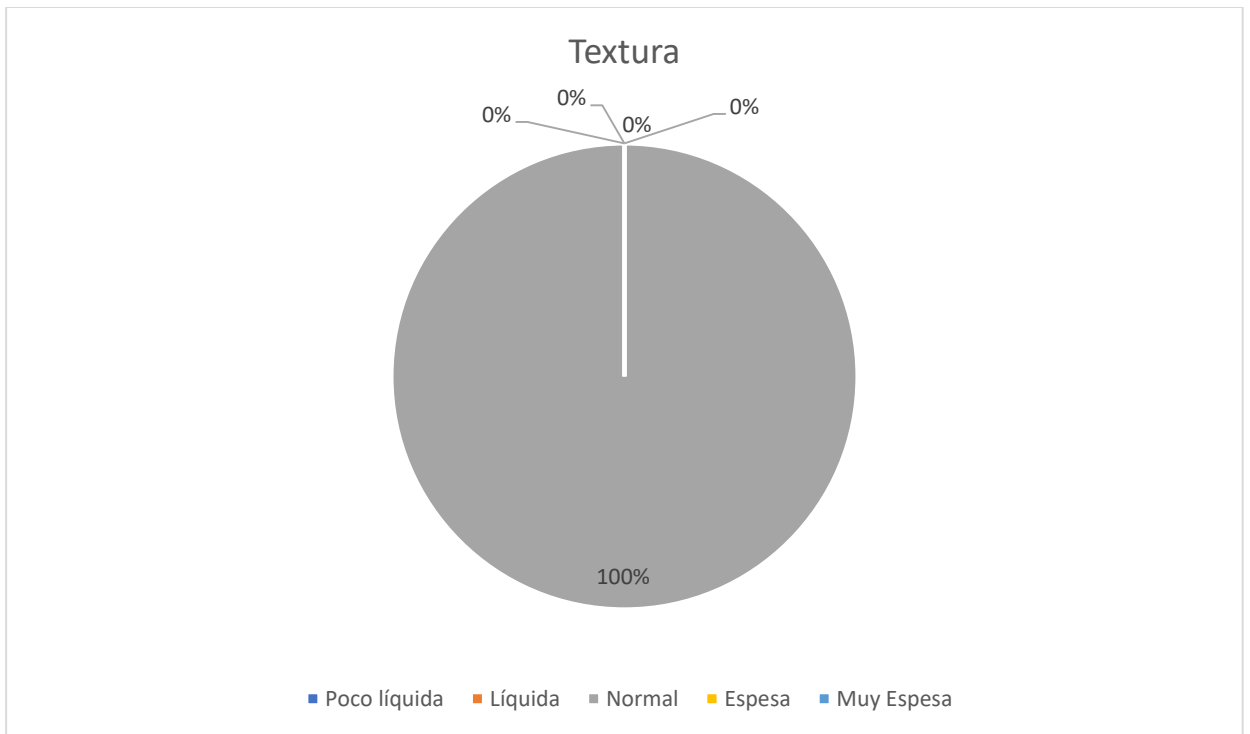


Figura 31 Muestra LC - Textura

Para el 100% del público la textura del jugo de manzana no se vio afectado por la adición de el extracto LC, presentado una textura normal e igual a la del jugo natural de manzana.

Aceptación

- *Prefiere el conservante convencional (ácido cítrico)*
- *Prefiere el conservante natural (Extracto de semilla de aguacate)*



Figura 32 Muestra LC - Aceptación

En este caso para este extracto añadido al jugo de manzana un 88% de los encuestados aprueban el uso del conservante obtenido a partir de la semilla de aguacate, mientras el 12% prefiere el conservante convencional.

Muestra: Jugo de manzana + TP (Triturado Propio)

Color

- *Claro*
- *Característico*
- *Oscuro*

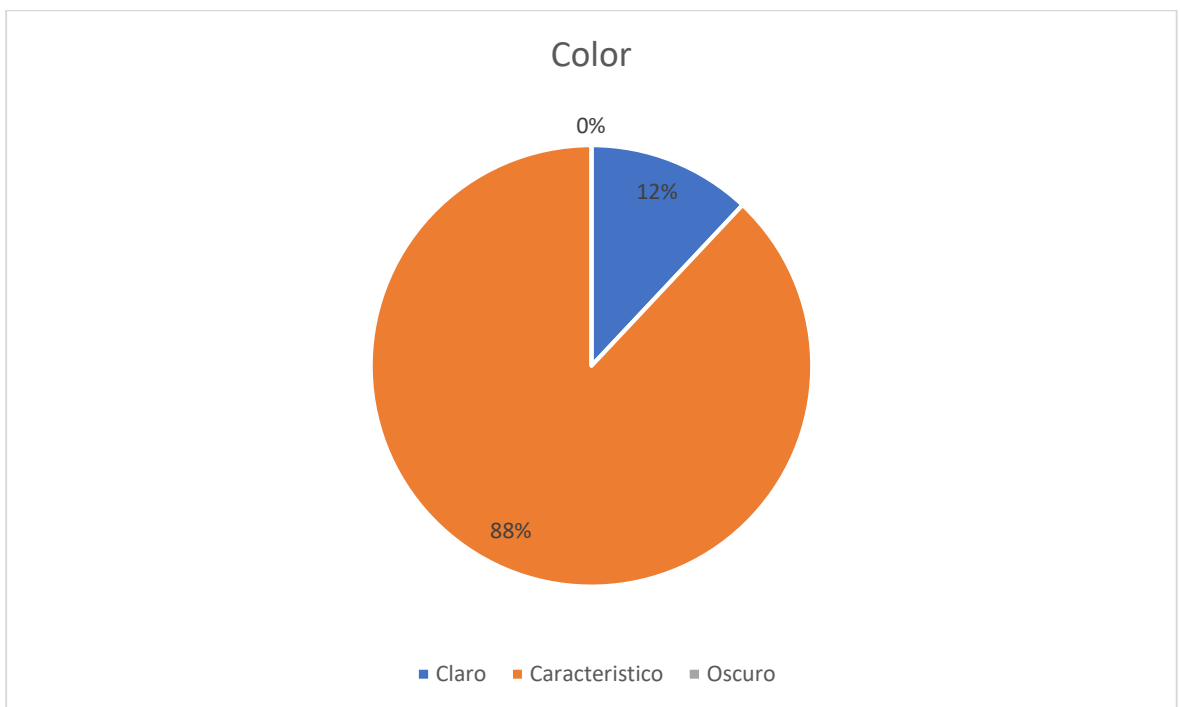


Figura 33 Muestra TP - Color

Para el jugo de manzana con el extracto TP, el mayor porcentaje siendo el 88% de los encuestados concluyeron que el jugo tenía un color característico propio de la manzana natural, mientras el 12% restante observó un color más claro de lo normal.

Olor

- *Nada Perceptible*
- *Poco Perceptible*
- *Perceptible*
- *Muy Perceptible*

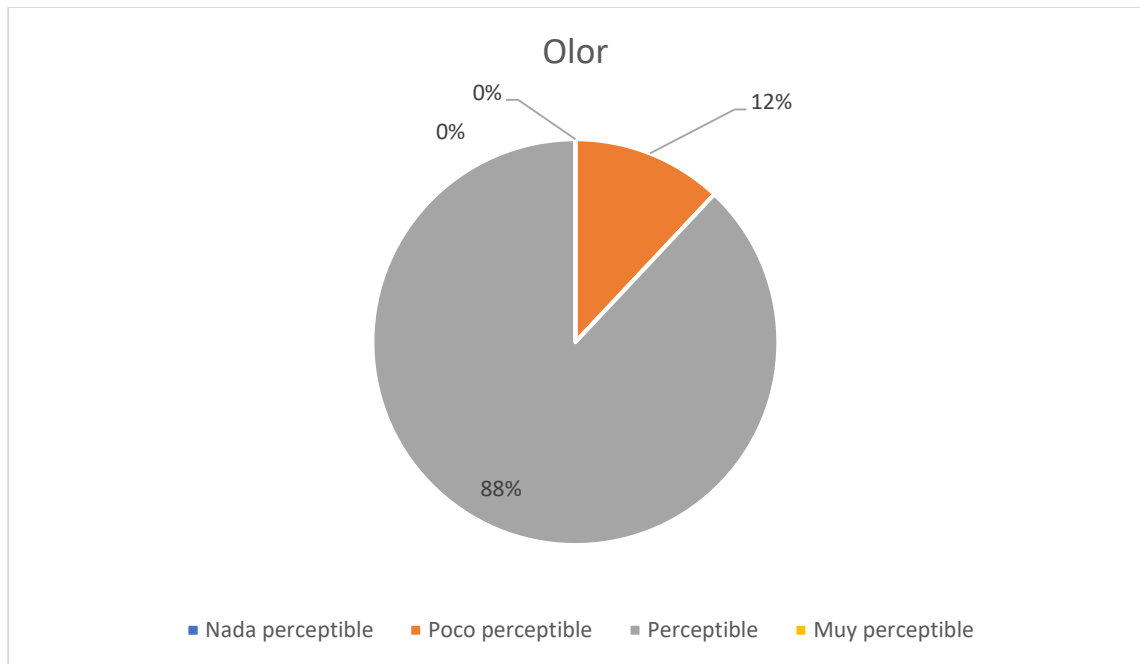


Figura 34 Muestra TP - Olor

Al observar el gráfico se concluye que la adición del extracto TP influye notoriamente en el olor del jugo de manzana, siendo el 88% de los encuestados los que encontraron perceptible al olor que aportó el conservante a la bebida, no obstante, el 12% restante concluyeron que el olor en si no es fuerte, pero es notorio, por lo cual se concluye que el 100% de los encuestados perciben el olor que aporta el conservante natural de semilla.

Sabor

- *Muy desagradable*
- *Desagradable*
- *No agrada ni desagrada*
- *Agradable*
- *Muy agradable*

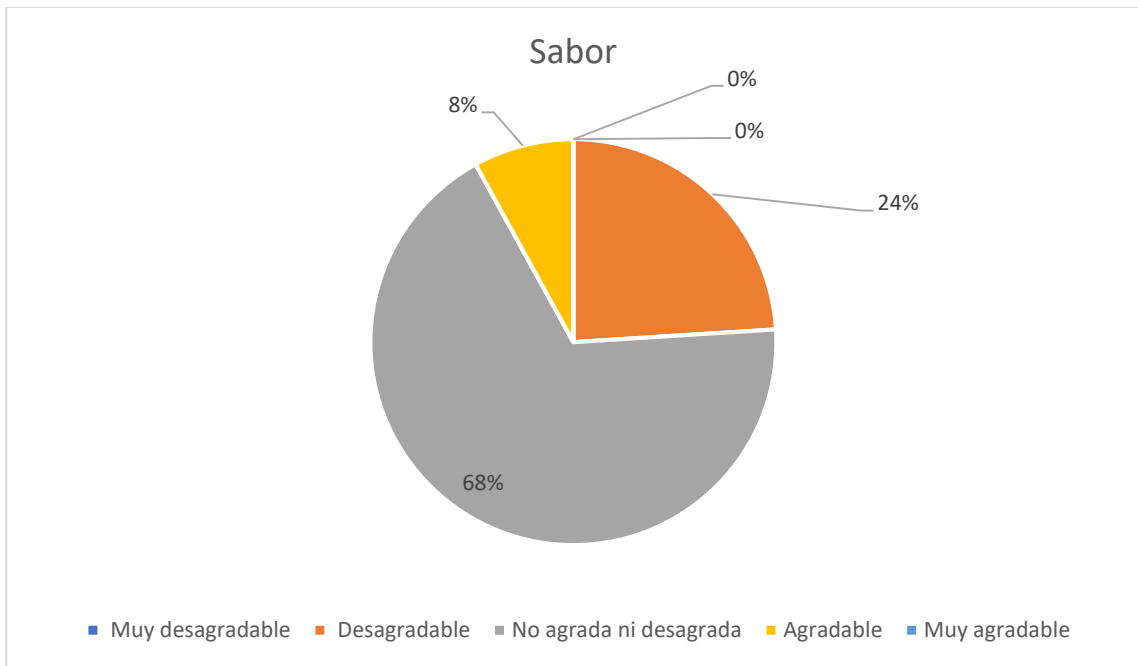


Figura 35 Muestra TP - Sabor

En cuanto al sabor del jugo con el extracto TP un 68% de los encuestados estuvo de acuerdo en que el conservante no aportaba sabor al jugo, pero un 24% afirmó que el sabor se vio afectado por el extracto volviéndolo desagradable al gusto y contrariamente un 2% afirmó que el sabor era agradable, por lo cual se pudo concluir que el sabor si se ve afectado en la bebida al añadir el conservante natural de la semilla de aguacate.

Textura

- *Poco líquida*
- *Líquida*
- *Normal*
- *Espesa*
- *Muy Espesa*

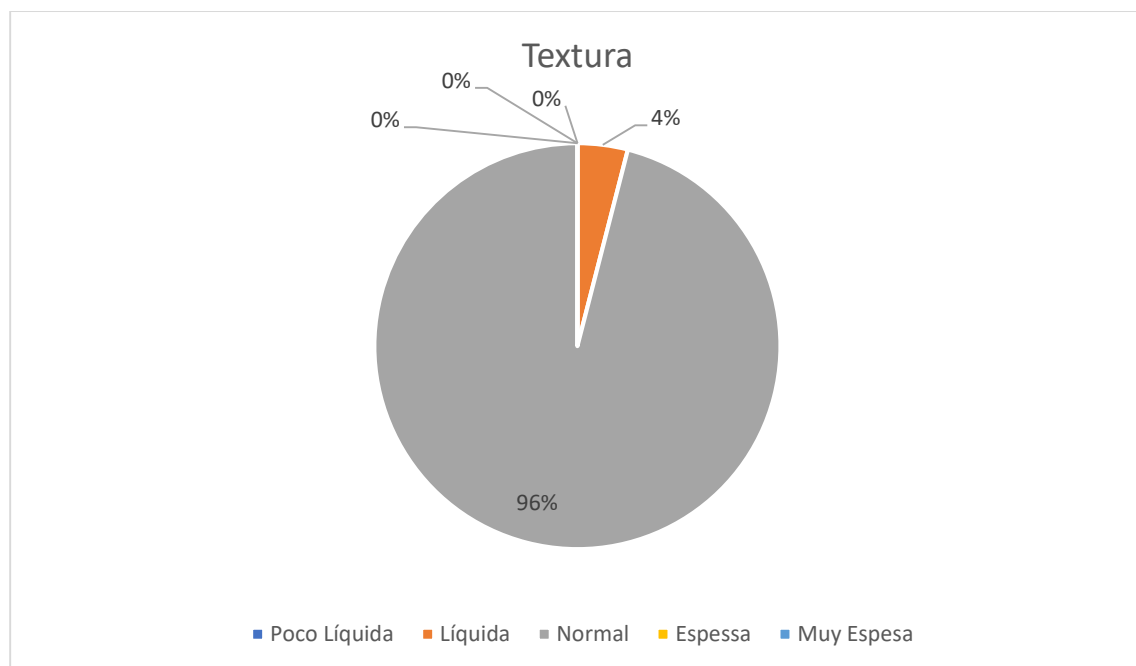


Figura 36 Muestra TP - Textura

Para el 96% del público la textura del jugo de manzana no se vio afectado por la adición de el extracto TP, presentado una textura normal e igual a la del jugo natural de manzana, pero una minoría del 4% notaron una textura más líquida de lo normal.

Aceptación

- *Prefiere el conservante convencional (ácido cítrico)*
- *Prefiere el conservante natural (Extracto de semilla de aguacate)*



Figura 37 Muestra TP - Aceptación

En este caso para este extracto añadido al jugo de manzana un 60 de los encuestados tuvieron mayor aceptación para el uso del conservante obtenido a partir de la semilla de aguacate, mientras el % prefiere el conservante convencional.

Muestra: Jugo de manzana + LP (Liofilizado Propio)

Color

- *Claro*
- *Característico*
- *Oscuro*

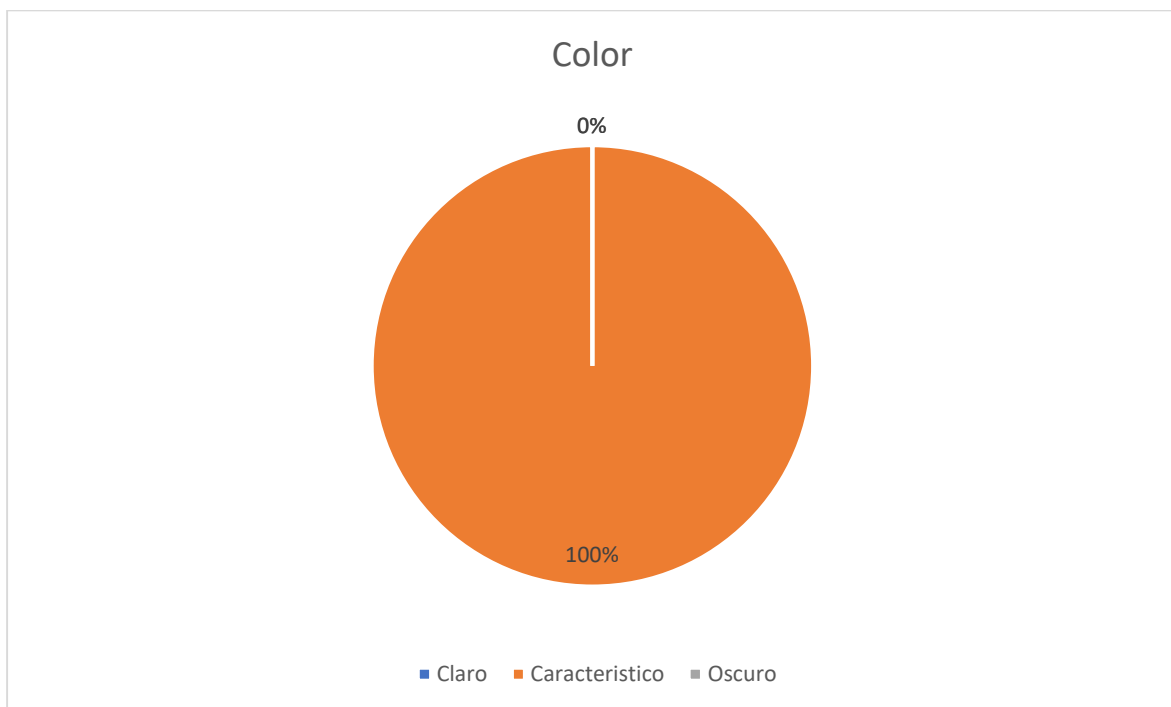


Figura 38 Muestra LC - Color

Para el jugo de manzana con el extracto LP, el porcentaje siendo el 100% de los encuestados concluyeron que el jugo tenía un color característico propio de la manzana natural, dando alusión a que el conservante no influyó en el color de la bebida.

Olor

- *Nada Perceptible*
- *Poco Perceptible*
- *Perceptible*
- *Muy Perceptible*

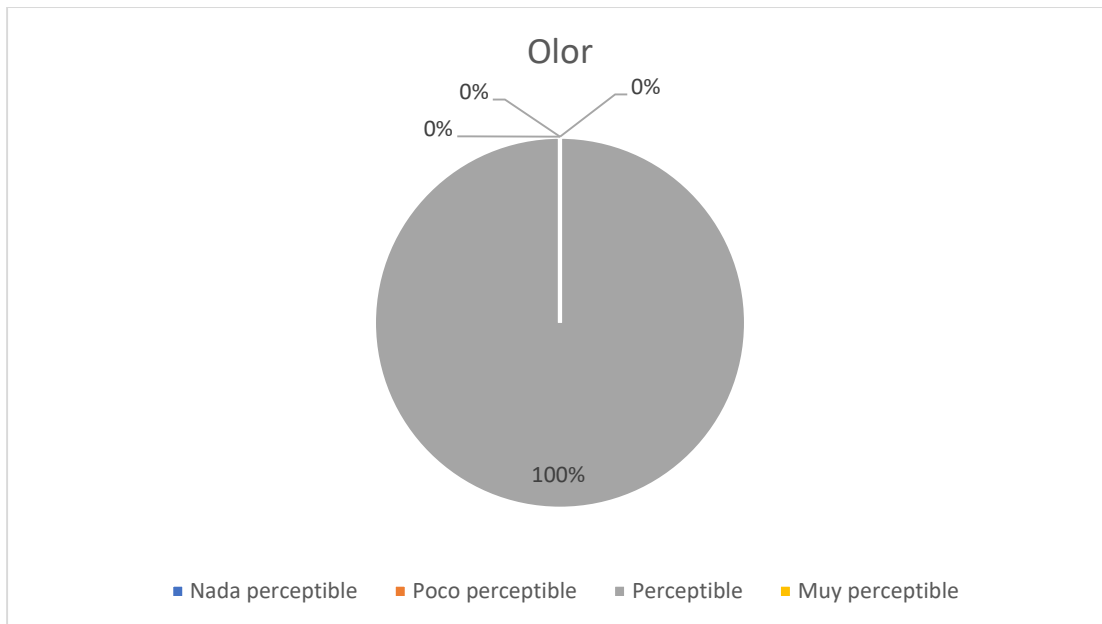


Figura 39 Muestra TP - Olor

Al observar el gráfico se concluye que la adición del extracto LP influye notoriamente en el olor del jugo de manzana, siendo el 100% de los encuestados los que encontraron perceptible al olor que aportó el conservante a la bebida.

Sabor

- *Muy desagradable*
- *Desagradable*
- *No agrada ni desagrada*
- *Agradable*
- *Muy agradable*

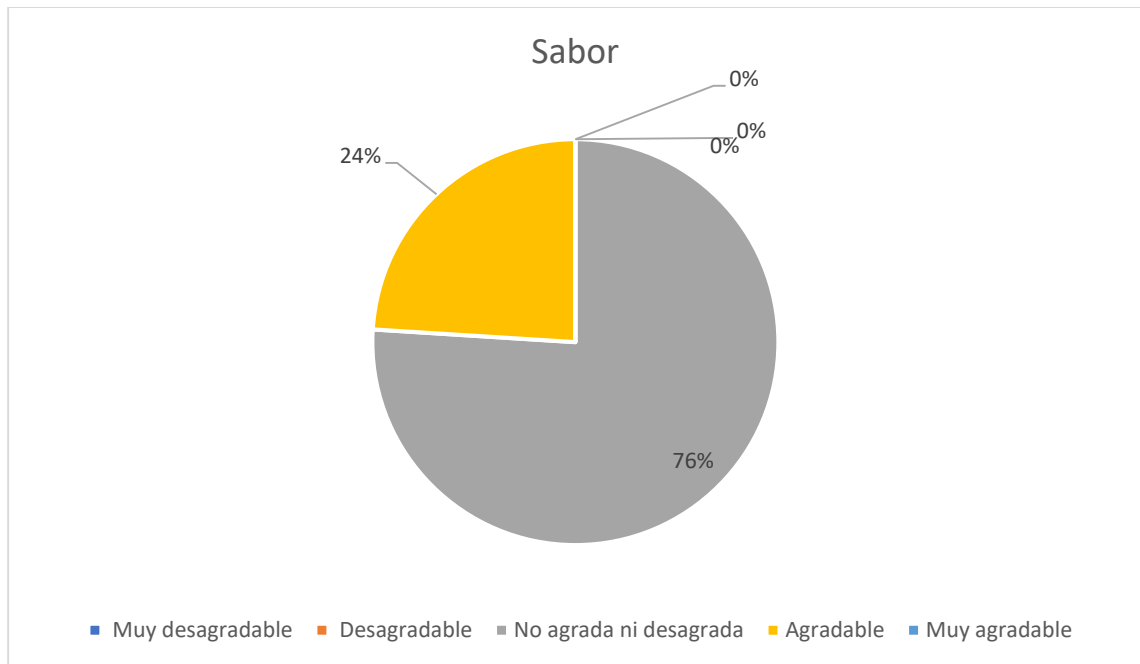


Figura 40 Muestra TP - Sabor

En cuanto al sabor del jugo con el extracto LP un 76% de los encuestados estuvo de acuerdo en que el conservante no aportaba sabor al jugo, pero un 24% afirmó que el sabor se vio afectado por el extracto volviéndolo agradable al gusto por lo cual se pudo concluir que el sabor si se ve afectado en la bebida al añadir el conservante natural de la semilla de aguacate.

Textura

- *Poco líquida*
- *Líquida*
- *Normal*
- *Espesa*
- *Muy Espesa*

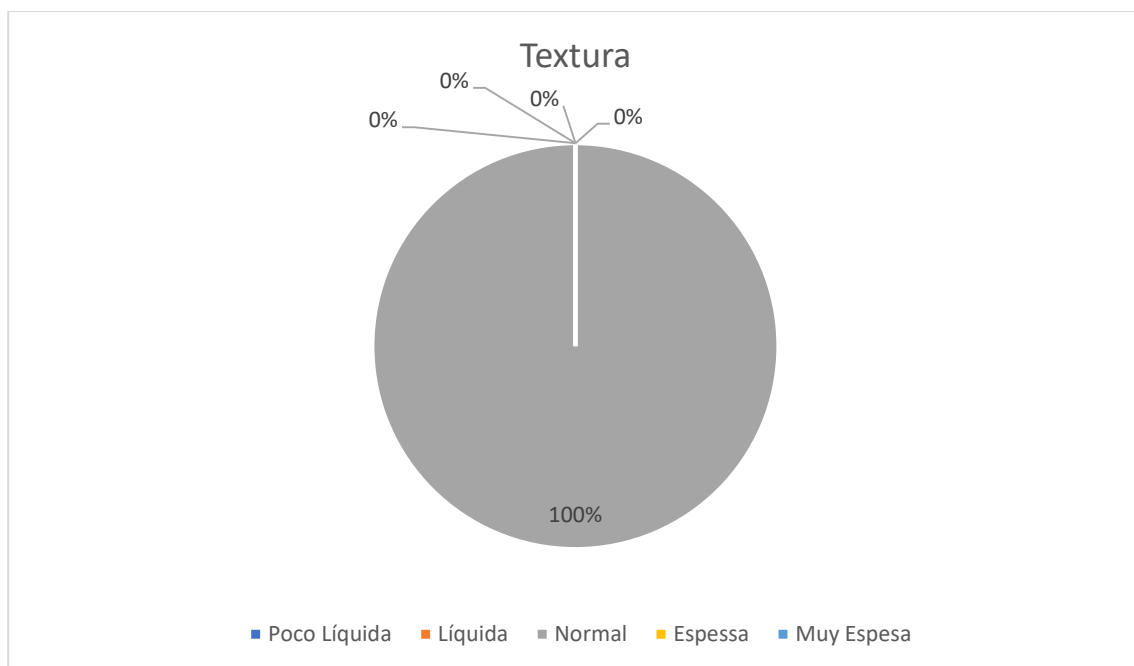


Figura 41 Muestra TP - Textura

Para el 100% del público la textura del jugo de manzana no se vio afectado por la adición de el extracto TP, presentado una textura normal e igual a la del jugo natural de manzana.

Aceptación

- *Prefiere el conservante convencional (ácido cítrico)*
- *Prefiere el conservante natural (Extracto de semilla de aguacate)*

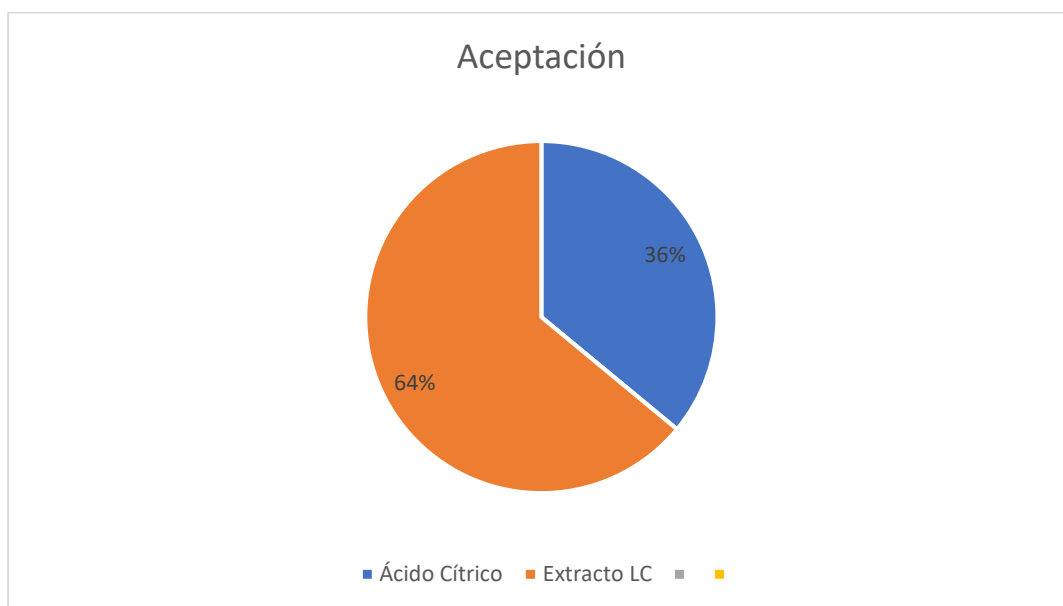


Figura 42 Muestra TP - Aceptación

En este caso para este extracto añadido al jugo de manzana un 64% de los encuestados

tuvieron mayor aceptación para el uso del conservante obtenido a partir de la semilla de aguacate, mientras el 36% prefiere el conservante convencional.

Discusión

Una vez que se realizaron los ensayos a las diferentes muestras tipificadas como M1, M2, M3 y M4, se pudo observar que hubo dos (02) tratamientos con elevado valor de desviación estándar, por lo cual se realizaron los análisis estadísticos anteriormente señalados. Los valores obtenidos en la prueba de Folin Ciocalteu revelaron la presencia de compuestos fenólicos en todas las muestras, lo que es indicativo de la capacidad antioxidante del extracto de semilla de aguacate, afirmación que puede ser apoyada por estudios previos como el realizado por FODECYT (2006) donde concluyen que la concentración de polifenoles es alta, así como su idoneidad como antioxidante, y confirmada con la presente investigación.

Según Belete, Hailu, y Gebrie. (2019), el consumo de aguacate (*Persea americana Mill*) ha aumentado en todo el mundo en los últimos años. Parte de este alimento (piel y semilla) se pierde durante el procesamiento. Sin embargo, una alta proporción de sustancias bioactivas, como los polifenoles, permanecen en este residuo. Sus actividades biológicas tales como actividades antioxidantes, antihipertensivas, fungicidas, larvicidas, hipolipidémicas, amebicidas y giardicidas han sido reportadas. Por lo tanto, se puede concluir que, la semilla de aguacate es valiosa nutricionalmente como las demás partes de la planta en base a los fitoquímicos y nutrientes que la constituye. El consumo de semilla de aguacate es recomendable ya que tiene un alto contenido nutricional que la hace suficiente para un posible uso dietético y etnomedicinal.

Autores como Segovia y otros (2014) señalan que el extracto liofilizado se utilizó como protección de la oxidación de aceites (emulsiones de aceite en agua) y grasas (hamburguesas de res) con excelentes resultados, especialmente en carnes, en las que la durabilidad de la carne de las hamburguesas aumenta significativamente con respecto a la oxidación

De la misma manera, Tremocoldi y colaboradores (2018), sugieren que para determinar de manera más efectiva la cantidad de polifenoles, la técnica de la extracción ultrasónica fue muy efectiva ya que disminuyó el tiempo de procesamiento, redujo el costo de extracción, evitó el daño térmico y mejoró la cantidad de compuestos bioactivos. Así, los extractos de cáscara y semilla de aguacate se obtuvieron mediante esta técnica. y una solución que contiene etanol/agua (80/20, v/v), porque este es un solvente favorable en la extracción de sustancias polares como compuestos fenólicos, no tiene efectos tóxicos sobre los seres humanos, y es respetuoso con el medio ambiente.

Capítulo 5

Conclusiones y Recomendaciones

5.1. Conclusiones

Se determinó que la capacidad antioxidante de la semilla de aguacate tuvo un efecto positivo en la bebida de manzana ya que retardó la oxidación del jugo, al menos 6 horas al igual que el conservante convencional, pero en base a la bibliografía y al trabajo expuesto, el método de extracción y el tratamiento previo que se le dé a la semilla de aguacate influyó directamente en la eficacia del conservante obtenido.

Se observó que el tratamiento que se le dé a la semilla influye en la eficacia del conservante, así, la diferencia entre las semillas que fueron secadas por liofilización y las que no sufrieron ese proceso fueron notorias, debido principalmente al olor y sabor que aportaron al jugo, como se vio reflejado en las encuestas, a pesar de que todos los tratamientos añadieron algún cambio a las características organolépticas del jugo de manzana natural, las que fueron liofilizadas mantuvieron un efecto agradable en su adición al jugo.

En comparación al conservante convencional de base Ácido Cítrico, el extracto de semilla de aguacate cumplió con la función de retrasar la oxidación del jugo de manzana, pero en vista de que afectó las características organolépticas del jugo se concluye que el uso del extracto debe ser considerado la concentración de este de modo que no afecte a las características organolépticas.

Con la información recopilada, analizada y procesada se concluyó con la elaboración de un artículo científico, de tal manera que se exprese brevemente lo estudiado y demostrado en este trabajo.

5.2. Recomendaciones

Realizar una investigación haciendo uso de la técnica de extracción ultrasónica para comparar los resultados que se obtendrían, con los hallazgos de esta investigación.

En el ensayo de lixiviación se debe controlar el solvente a utilizar, la temperatura y el proceso de triturado de la semilla de aguacate.

En cuanto al proceso de liofilización, poner especial atención a la calidad de la semilla de aguacate a liofilizar, al proceso de congelación y a la calidad del aire del lugar donde se está desarrollando el proceso, es decir, debe realizarse en un ambiente vigilado.

Verificar la dosificación correcta del conservante en la adición al producto perecedero, cuidando así las características organolépticas de cualquier producto.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Bibliografía

Álvarez, J. (Junio de 2021). *Revista Metropolitana de Ciencias Aplicadas*. Obtenido de <https://remca.umet.edu.ec/index.php/REMCA/article/view/424/444>

Amad, J. (Enero de 2016). *cienciadedatos.net*. Obtenido de https://www.cienciadedatos.net/documentos/19_anova

Arellano, K., Herrera, J., Quispe, M., & Esponiza, C. (Oct-Dic de 2015). Evaluación de los compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de tres colores de pétalos de mastuerzo (*Tropaeolum majus* L.). *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 81(4).

Barbosa-Martín, E., Fajardo-Niquete, I., Sosa-Valadez, F., & Cetina-Sánchez, F. (Septiembre de 2016). *Revista Española de Nutrición Humana y Dietética*. Obtenido de https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2174-51452016000300007

- Barbosa-Martína, E., Fajardo-Niquetea, I., Sosa-Valadeza, F., & Cetina-Sánchez, F. (Septiembre de 2016). *Revista Española de Nutrición Humana y Dietética*, 20(3).
- Belete, T., Hailu, Z., & Gebrie, E. (2019). A Review on Avocado Seed: Functionality, composition, antioxidant. *Chemical Science International Journal*.
- Bressani. (2009). *La composición química, capacidad oxidativa y valores nutritivos de variedades de aguacate*. Informe Final, CONCIT, SENACYT, FONACYT, UVG, Guatemala.
- Calzada, R. (2017). *Gobierno de México*. Recuperado el 08 de Febrero de 2022, de <https://www.gob.mx/asercaprensa/sera-expo-mexico-alimentaria-2017-la-gran-ventana-de-productos-del-campo-nacional-al-mundo-jose-calzada-rovirosa-135638?idiom=es>
- Cañas, G., Galindo, L., Arango, R., & Saldamando, C. (Ene-Jun de 2015). Diversidad genética de cultivares de aguacate (*Persea americana*) en Antioquia, Colombia . *Agronomía Mesoamericana*, 26(1).
- Daiuto, É., Tremocoldi, M., Alencar, S., Lopes, R., & Minarelli, P. (Junio de 2014). Composição química e atividade antioxidante da polpa e resíduos de abacate 'Hass'. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 36(2).
- Escobar, J., Rodriguez, P., Cortez, M., & G, C. (Junio de 2019). Influencia de la Materia Seca como Índice de Madurez de Cosecha y Tiempo de Almacenamiento en Frío sobre la Calidad del Aguacate cv. Hass Producido en la Región del Trópico Alto. *Información tecnológica*, 30(2).
- Figuroa, J., Borrás, I., Lozano, J., & Segura, A. (2018, Marzo). Caracterización integral de compuestos fenólicos y otros compuestos polares en la semilla y cubierta de semilla de aguacate por HPLC-DAD-ESI-QTOF-MS. *Investigación Internacional de Alimentos*, 752-763.

- García, E. I. (2012). *EXTRACCIÓN Y CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DE LA FRACCIÓN COLORANTE DE LA SEMILLA DEL AGUACATE (PERSEA AMERICANA MILLER) A NIVEL LABORATORIO*. [Trabajo de grado para optar al título de Ingeniero Químico], Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.
- Guerrero, J. (4 de Julio de 2013). *slideshare.net*. Obtenido de <https://es.slideshare.net/JaimeIncaGuerrero/anova-prueba-de-tukey>
- Guija-Poma, E., Inocente-Camones, M., Ponce-Pardo, J., & Zarzosa-Norabuena, E. (Ene-Mar de 2015). Evaluación de la técnica 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo (DPPH) para determinar capacidad antioxidante. *Horizonte Médico (Lima)*, 15(1).
- Herrera, F. (2016). *OBTENCIÓN DE ANTIOXIDANTES A PARTIR DEL EPICARPIO DE CAFÉ (Coffea arabica L.) EMPLEANDO FLUIDOS PRESURIZADOS, UNA ALTERNATIVA DE APROVECHAMIENTO PARA ESTE RESIDUO AGROINDUSTRIAL*. PROYECTO DE GRADO PARA OPTAR AL TÍTULO DE INGENIERO AMBIENTAL, UNIVERSIDAD LIBRE, Bogotá, Colombia. Retrieved February 08, 2022, from <https://repository.unilibre.edu.co/bitstream/handle/10901/10362/OBTENCI%C3%93N%20DE%20ANTIOXIDANTES%20A%20PARTIR%20DEL%20EPICARPIO%20DE%20CAF%C3%89.pdf?sequence=1>
- Hurkul, M., Sarıaltın, S., Koroğlu, A., & Çoban, T. (Junio de 2021). Potencial inhibidor in vitro de frutos de aguacate, *Persea americana* (Lauraceae) contra la oxidación, inflamación y enzimas clave vinculadas a enfermedades de la piel. *Revista de Biología Tropical*, 69(2).
- Kuskoski, M., Troncoso, A., Mancini, J., & Fett, R. (14 de Febrero de 2006). Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Food Science and Technology*, 25(4).

- Morais, D., Roota, E., Sargi, S., Schmidt, E., & Guntendorfer, E. (Noviembre de 2015). Antioxidant activity, phenolics and UPLC–ESI(–)–MS of extracts from different tropical fruits parts and processed peels,. *Investigación Internacional de Alimentos. ScienceDirect*, 77, 392-399.
- Osorio-Esquivel, O., Dorantes Álvarez, L., & Ortiz-Moreno, A. (2014). Composición fisicoquímica, actividades biológicas y aplicaciones tecnológicas de las semillas de aguacate. En ENCB (Ed.). (pág. 171). México: Nova Science Publishers, Inc.
- Pérez Rosales, R., Villanueva Rodríguez, S., & Cosío Ramírez, R. (2005). El aceite de aguacate y sus propiedades nutricionales. *Sistema de Información Científica Redalyc*, 3(E-ISSN: 1665-5745).
- Pérez, S., Ávila, G., & Coto, O. (Abril-Junio de 2015). El aguacatero (Persea americana Mill). *Cultivos Tropicales*, 36(2).
- Permal, R., Brent, W., & Rothman, N. (15 de Febrero de 2020). *ScienceDirect*. Obtenido de <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814619317601>
- Segovia, F., Corral-Pérez, J., & Almajano, M. (Junio de 2016). Semilla de aguacate: Modelado de extracción de compuestos bioactivos. *Cultivos y Productos Industriales*, 85, 213-220.
- Segovia, F., Peiró, S., Gallego, M., Aini, N., & Pilar, M. (2014). Avocado Seeds: Extraction Optimization and Possible Use as Antioxidant in Food. *Antioxidants*, 439-454. Obtenido de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4665478/>
- Sistema Nacional Argentino de Vigilancia y Monitoreo de Plagas. (2018). *Cultivo de aguacate*. Obtenido de [https://www.sinavimo.gob.ar/cultivo/persea-americana#:~:text=americana\),.gris%C3%A1ceo%20en%20las%20m%C3%A1s%20viejas](https://www.sinavimo.gob.ar/cultivo/persea-americana#:~:text=americana),.gris%C3%A1ceo%20en%20las%20m%C3%A1s%20viejas).
- Tremocoldi, M., Rosalen, P., Franchin, M., & Massarioli, A. (2018). Exploration of avocado

- by products as natural sources of bioactive compounds. *Plos one*.
- Vivero, A., Valenzuela, R., Valenzuela, A., & Morales, G. (2019). Palta: compuestos bioactivos y sus posibles beneficios en salud. *revista chilena de nutricion*, 46(4).
- Albarrán, G., Mendoza, E., & Beltrán, J. (2014). Influence of concentration on the radiolytic decomposition of thiamine, riboflavin, and pyridoxine in aqueous solution. *Revista Colombiana de química*, 3, 43. Obtenido de file:///C:/Users/USUARIO/Downloads/Compuestosfenlicosoinhibicindelestrsoxidativodeun.pdf
- Belete, T., Hailu, Z., & Gebrie, E. (2019). A Review on Avocado Seed: Functionality, composition, antioxidant. *Chemical Science International Journal*.
- Bermúdez, M., Pacheco, N., & Blanco, A. (13 de noviembre de 2020). Compuestos fenólicos e inhibición del estrés oxidativo de un extracto metanólico de semilla de aguacate (*Persea americana* Mill). *FAV-UNRC*, 6(3), 68-74. Obtenido de http://www.ayv.unrc.edu.ar/ojs/index.php/Ab_Intus/article/view/147/107
- FODECYT. (2006). *La composición química, capacidad oxidativa y valor nutritivo de las semillas de variedades de aguacate*. Obtenido de <http://glifos.senacyt.gob.gt/digital/fodecyt/fodecyt%202006.02.pdf>
- Tremocoldi, M., Rosalen, P., Franchin, M., & Massarioli, A. (2018). Exploration of avocado by products as natural sources of bioactive compounds. *Plos one*.
- UNIBE. (2022). *Análisis fitoquímico de la semilla de Persea americana Mills (aguacate) y evaluación de su actividad antioxidante*. (U. d. Iberoamérica, Editor) Obtenido de <https://unibe.ac.cr/revistafarmacia/1110-analisis-fitoquimico-de-la-semilla-de-persea-americana->

Anexos

Reporte de similitud	
NOMBRE DEL TRABAJO	AUTOR
XGarcía.docx	Xavier García
RECUENTO DE PALABRAS	RECUENTO DE CARACTERES
8276 Words	43471 Characters
RECUENTO DE PÁGINAS	TAMAÑO DEL ARCHIVO
62 Pages	7.7MB
FECHA DE ENTREGA	FECHA DEL INFORME
Jul 5, 2022 8:53 AM GMT-5	Jul 5, 2022 8:55 AM GMT-5
<p>● 10% de similitud general El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para cada base de datos</p> <ul style="list-style-type: none">• 8% Base de datos de Internet• Base de datos de Crossref• 6% Base de datos de trabajos entregados• 1% Base de datos de publicaciones• Base de datos de contenido publicado de Crossref	
<p>● Excluir del Reporte de Similitud</p> <ul style="list-style-type: none">• Material bibliográfico• Material citado• Bloques de texto excluidos manualmente• Material citado• Coincidencia baja (menos de 8 palabras)	

Anexo 2 Artículo Científico

DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE LA SEMILLA DE AGUACATE (*Persea americana Mill*) COMO ALTERNATIVA DE CONSERVANTE NATURAL DE ALIMENTOS

García León Xavier Fernando¹
xgarcia@est.ups.edu.ec

Resumen

El uso de antioxidantes como conservantes naturales es muy importante ya que se pueden obtener beneficios nutricionales de los alimentos, además de hacerlos menos perecederos lo que impide que se generen pérdidas económicas, de ahí el propósito de la investigación de determinar la capacidad antioxidante de la semilla de aguacate (*Persea americana Mills.*) como alternativa de conservante natural dentro de la industria alimentaria. Para ello se extrajeron semillas de aguacate a las que se les separó la pulpa de forma manual y luego fueron lavadas con suficiente de agua hasta quedar completamente libre de pulpa, posteriormente se dejaron secar. La determinación de la capacidad antioxidante se realizó aplicando los métodos DPPH y Folin-Ciocalteu. La metodología empleada fue de tipo aplicada, con diseño experimental. En cuanto a los resultados, los mismos fueron analizados aplicando el análisis de varianza Anova de una vía, concluyendo que una alta proporción de sustancias bioactivas, como los polifenoles, permanecen en las semillas de aguacate que son consideradas como residuos.

Palabras clave: *Persea americana Mills*, capacidad antioxidante y conservante natural.

Abstract

The use of antioxidants as natural preservatives is very important since nutritional benefits can be obtained from food, in addition to making them less perishable, which prevents economic losses from being generated, hence the purpose of the research to determine the antioxidant capacity of the seed. of avocado (*Persea americana Mills.*) as an alternative natural preservative within the food industry. For this, avocado seeds were extracted from which the pulp was separated manually and then washed with enough water until completely free of pulp, then left to dry. The determination of the antioxidant capacity was carried out applying the DPPH and Folin-Ciocalteu methods. The methodology used was of an applied type, with an experimental design. Regarding the results, they were analyzed applying the one-way Anova analysis of variance, concluding that a high proportion of bioactive substances, such as polyphenols, remain in the avocado seeds that are considered as residues.

Keywords: *Persea americana Mills*, antioxidant capacity and natural preservative.

Introducción

La determinación de la capacidad antioxidante de la semilla de aguacate (*Persea americana Mill*) para una potencial alternativa de preservante natural, expone la posibilidad de plantear un sustituto natural de cualquier tipo de conservante sintético que podría no resultar beneficioso para el organismo, de tal manera que la dieta diaria se vería beneficiada. Además, la producción mundial de aguacate es sumamente alta, estimada en miles de millones de toneladas por lo que estaría al alcance y a un bajo costo en referencia a los conservantes artificiales. En la actualidad, esta semilla es considerada un residuo, tiene un peso equivalente al 15%-20% del peso total de la fruta, de allí la importancia de encontrar una aplicación para estos residuos sin valor aparente, ya que su disposición final no sería un problema ambiental, sino que podrían ser aprovechados al demostrar que puede dársele un uso, esto produciría un gran aporte y revolucionaría la industria alimentaria con respecto a la producción de preservantes.

Objetivos

Objetivo General

Determinar la capacidad antioxidante de la semilla de aguacate (*Persea americana Mills.*) como alternativa de conservante natural dentro de la industria alimentaria.

Objetivos Específicos

Obtener los antioxidantes de la semilla de aguacate mediante extracción por lixiviación determinando su rendimiento.

Determinar la eficiencia en la extracción de antioxidantes mediante el tratamiento de secado de la semilla de aguacate.

Comparar las propiedades antioxidantes de la semilla de aguacate y del ácido cítrico como conservantes, observando las propiedades organolépticas al ser aplicados en jugo de manzana.

Hipótesis

Si lo extraído por lixiviación de la semilla de aguacate posee capacidad antioxidante, podría ser utilizado como conservante natural en la industria alimentaria.

Hipótesis Nula (H0): La semilla de aguacate tiene propiedades antioxidantes, pero no puede usarse como preservante natural de alimentos.

Hipótesis Alternativa (H1): La semilla de aguacate tiene propiedades antioxidantes, que puede usarse como preservante natural de alimentos.

Variable dependiente: Rendimiento de extracción, capacidad antioxidante

Variable independiente: Tratamientos de secado

Bases teóricas

2.1. Características Botánicas del Aguacate

Las características visuales del aguacate son: forma de pera o de melocotón, color verde o violáceo oscuro, de cobertura rugosa y su pulpa de color verde amarillenta, posee una semilla muy grande en el centro. Se conocen cerca de 400 tipos diferentes, debido a esto sus formas y pesos pueden ser incomparables, pudiendo llegar a pesar desde 150 a 350 gr y en relación la semilla esta puede llegar a pesar del 15% al 20% del total del peso del fruto, dependiendo de su forma (Pérez et al., (2005).

Tabla 15

Taxonomía del aguacate (Persea americana Mill)

Taxonomía del Aguacate (Persea americana Mill)	
Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Lurales
Familia	Lauraceae
Género	Persea
Especie	Persea americanan Mill

Fuente: (Daiuto et al., (2014)

Capacidad antioxidante

Antioxidante

Es una molécula capaz de retrasar o evitar la oxidación de otras moléculas, casi siempre en sustancias de origen biológico, tales como: grasas, proteínas ó ácidos nucleicos. La transformación de esas sustancias por la acción del oxígeno, puede ser llevada a cabo por moléculas generadas a partir del metabolismo fisiológico, como los radicales libres (Cañas-Gutiérrez et al., (2015).

Radical Libre

Desde la perspectiva química, son moléculas con al menos un electrón no apareado en su orbital periférico, estos a su vez pueden reaccionar con otras moléculas provocando su inestabilidad, además, se pueden presentar en forma autónoma (Vivero et al., (2019).

Metodología DPPH

La utilización del método DPPH está documentada desde la última década de los

noventa, observándose en general que los investigadores no hacen uso de la misma proporción del DPPH en las disoluciones, dificultando poder realizar un análisis certero, teniendo en cuenta que los resultados prácticos son expresados como la medida de IC50, es decir, la concentración que es capaz de inhibir el 50% del radical libre DPPH (Guija et al., (2015).

Método de Folin-Ciocalteu

Este método está fundamentado en el análisis del contenido de fenoles en los alimentos. El reactivo de Folin-Ciocalteu contiene molibdato y tungstato sódico, que reaccionan con cualquier tipo de fenol, formando complejos fosfomolibdico-fosfotúngstico. Se ha observado una coloración azul intensa, cuando los compuestos fenólicos reaccionan con este reactivo a $\text{pH} > 7$, existiendo una correspondencia directa entre este color y el número de grupos hidroxilo de la molécula (Herrera, 2016).

Lixiviación

Es definida como el proceso a través del cual se extrae la fracción soluble luego del lavado de una materia triturada (Metodosdeseparaciondemezclas, 2020).

Liofilización

En la actualidad se ha avanzado en distintas formas de conservación de alimentos, una de estas técnicas es la liofilización, la cual permite ampliar la rentabilidad y a su vez disminuye la generación de desechos. La liofilización de alimentos consiste en congelar y sublimar a presión reducida los alimentos para disminuir la cantidad de agua que puedan contener a fin de aumentar el tiempo de conservación. Entre las principales propiedades de este proceso se puede mencionar: No poseen aditivos, conserva las características del alimento, se concentran los antioxidantes (Virtual Kitchens, 2020).

Conservantes de alimentos

Los conservantes de alimentos son aditivos que se agregan a estos deliberadamente, en proporciones previamente determinadas, para conservar el valor nutricional del alimento y favorecer la lisis bacteriana o evitar su proliferación, ya que estos ocasionan el detrimento de los alimentos. Estos aditivos deben ser especificados químicamente y tener el aval toxicológico del país donde se van a utilizar (Martínez, 2020).

Materiales y métodos

Población y muestra

La población estuvo conformada por las semillas de aguacate de la especie *Persea americana Mill*, y para la muestra, se utilizó un muestreo por racimos representado por:

semillas desechadas en lugares donde se haya consumido la fruta (restaurantes) y semillas recolectadas por el investigador, en ambos casos, se le aplicará a un 50% de la muestra el proceso de liofilización, analizando en qué estado los extractos de estos tratamientos presentan mejores resultados.

Materiales

Para el procesamiento de las semillas de aguacate, a fin de conocer su capacidad antioxidante, se utilizaron los materiales y equipos señalados en la tabla 2.

Tabla 16 Materiales para la recolección y preparación de semillas de aguacate (Persea americana Mill).

Materiales:	Equipos
Embudos de decantación	Molino de corte
Placas de petri	Destilador por arrastre de vapor
Frascos ámbar 500 mL	Centrífuga
Matraz aforado	Balanza electrónica
Tubos cónicos	Liofilizador ALPHA 1-2 DLPLUS
Papel de aluminio	Rotavapor
Tamices	Espectrofotómetro JASCO V-630

Fuente: Autor

Métodos

Recolección y preparación de las muestras, que posteriormente serán alistadas para las pruebas de laboratorio, según Figueroa et al., (2018),

Para obtener la semilla del aguacate, esta se separa de la pulpa en forma manual y se lava con suficiente de agua hasta quedar completamente libre de pulpa, posteriormente se deja secar. Una vez secas, se cortan en rodajas para un mejor resultado y se selecciona al azar el 50% de las semillas que se les aplicará el proceso de liofilización con el fin de extraerle toda su humedad, por un período de 8 horas. Posteriormente, tanto las muestras liofilizadas como las no liofilizadas se muelen por separado, este material es almacenado y protegido de la luz solar hasta su análisis.



Figura 43 Extracción del solvente por medio del Rotavapor

Fuente: Autor



Figura 44 Filtración al vacío de los extractos obtenidos

Fuente: Autor

Metodología DPPH

Curva de Calibración: Se preparó una solución con 49 mg de reactivo DPPH disuelto en 250 mL de etanol al 96%.

Se preparó una solución patrón, disolviendo 25 mg de ácido cítrico en 25 mL de etanol al 96% y se prepararon 8 soluciones para después obtener su absorbancia.

Tabla 17 Preparación curva de calibración

Solución	Ácido Ascórbico	Solución DPPH	Etanol 96%
Blanco	-	2.9 mL	100 uL
1	1 uL	2.9 mL	99 uL
2	5 uL	2.9 mL	95 uL
3	10 uL	2.9 mL	90 uL
4	20 uL	2.9 mL	80 uL
5	50 uL	2.9 mL	50 uL
6	80 uL	2.9 mL	20 uL
7	100 uL	2.9 mL	-

Fuente: Autor. Nota: Adaptado de (Alarcón, 2011)



Figura 45 Preparación de muestras para la toma de las medidas de absorbancia

Fuente: Autor

Preparación del radical DPPH

Se procedió a pesar 49 mg del radical aforado, previamente tarado y protegido contra la luz. Se disolvió en 250 mL de etanol al 96%. La solución se colocó en un mixer durante 20 minutos con la finalidad de lograr una adecuada disolución.

Análisis de la actividad antioxidante con la muestra de semilla de aguacate contra el radical DPPH. A 100 uL de cada extracto de las semillas de aguacate, se les adicionaron 2.9 mL de la solución de DPPH, se agitó fuertemente manteniéndolas en la oscuridad por 2 horas. Se registró la absorbancia a 517 nm. Los resultados se expresan en μmol equivalente de Ácido Ascórbico (ET)/g de muestra

Método de Folin-Ciocalteu

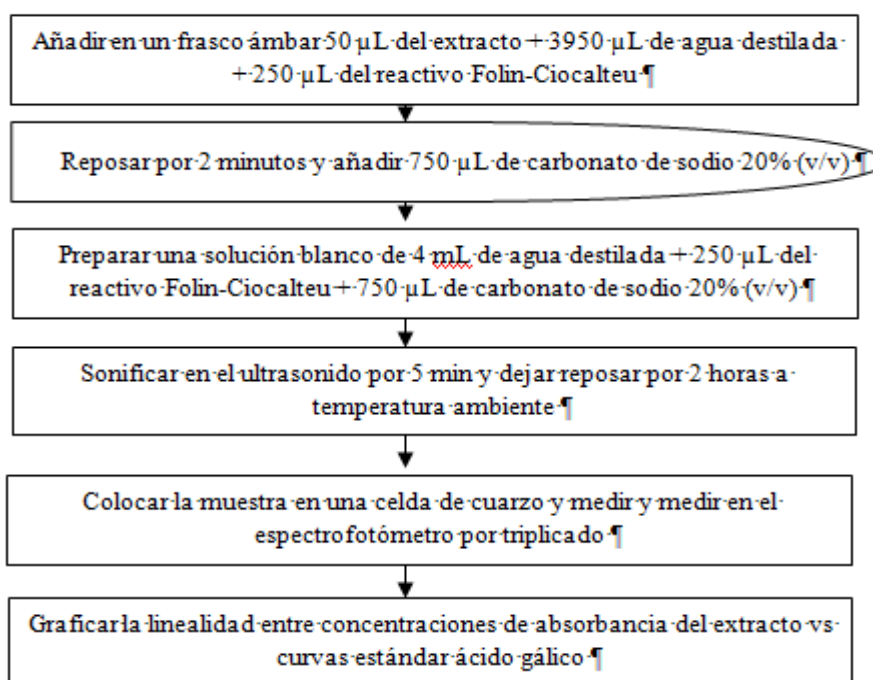


Figura 46 Diagrama de flujo Cuantificación Fenoles en los extractos

Fuente: Autor

Cuantificación de Fenoles

Se preparó una solución patrón de ácido gálico de 0,1 g/L, para ello se procedió a pesar una porción de 25 mg de ácido gálico, esta se colocó en un matraz aforado de 25 mL y se completó el volumen final con agua mili-Q (o de alta pureza). Al mismo tiempo, se preparó una solución de carbonato de sodio (NaCO_3) al 20%.

Tabla 18 Preparación de la curva de calibración

Muestra	Ácido gálico (μL)	Reactivo de Folin- Ciocalteu (μL)
Blanco	0	250
1	10	250
2	20	250
3	30	250
4	40	250
5	50	250

Fuente: Autor

Seguidamente, se dejaron reposar las diluciones en la oscuridad, durante un lapso de 2 horas, aplicando una fuerte agitación cada 30 minutos. Las lecturas de las muestras se hicieron a una longitud de onda de 760 nm en un espectrofotómetro

3.4. Metodología para la prueba en productos perecederos

Adquirir muestras de jugo de manzana y preparar una muestra con la porción de la muestra triturada, el extracto obtenido por la lixiviación y una cantidad proporcional de ácido cítrico por un lapso de 24 horas y analizar los resultados de preservación en el alimento frente a otra muestra a la cual no se le ha agregado ningún preservante.

Resultados y Discusión

4.1. Obtención de los antioxidantes de la semilla de aguacate mediante extracción por lixiviación.

La concentración de fenoles se relaciona con la cantidad de concentración equivalente de ácido gálico por gramo de muestra. No obstante, el reactivo de Folin-Ciocalteu, a pesar de ser el más comúnmente empleado para la determinación del contenido de polifenoles, puede reaccionar con compuestos no fenólicos, como el ácido ascórbico.

Previo al análisis de la capacidad antioxidante de la semilla del aguacate se establecieron cuatro tipos de muestras, triturado propio (M1), liofilizado propio (M2), triturado común (M3), y liofilizado común (M4).

En primer lugar, se determinaron los valores de rendimiento del lixiviado extraído, a continuación, se muestran los cálculos realizados para el rendimiento de la

extracción por lixiviación.

$$\% \text{ rendimiento} = \frac{\text{masa de extracto seco (g)}}{\text{masa seca de harina de semilla (g)}} \times 100$$

En el caso de la masa de extracto seco, es medido al igual que el picnómetro

- Masa del picnómetro vacío= 13,7781 g
- Masa del picnómetro + H₂O= 18,7901 g
- Masa del picnómetro + extracto = 17,9432 g

Se obtuvo la densidad del extracto realizando el siguiente cálculo

$$\rho = \frac{17,9432 \text{ g} - 13,7718 \text{ g}}{5,012 \text{ ml}} = 0,831 \text{ g/ml}$$

$$\text{Masa de extracto seco} = 105 \text{ mL} * 0,831 \text{ g / 1 mL} = 87,255 \text{ g}$$

Cabe mencionar que los 105 ml, es el volumen del líquido obtenido por roto evaporación.

$$\% \text{ rendimiento} = \frac{87,255 \text{ g}}{114,5 \text{ g}} \times 100 = 76,205\%$$

4.2. Determinación la eficiencia en la extracción de antioxidantes mediante el tratamiento de secado de la semilla de aguacate

4.2.1. Metodología DPPH

Seguido, se aplicó la metodología DPPH, en este caso fue imprescindible la realización de una curva de calibración, cada una de las muestras fueron analizadas y medidas mediante absorbancia.

Tabla 5 Absorbancia de muestras obtenidas con la prueba DPPH

Muestras	Absorbancia
M1. Triturado propio	0.817
M2. Liofilizado propio	0.978
M3. Triturado común	0.841
M4. Liofilizado común	0.7772

Fuente: Autor

Tabla 6 Absorbancias obtenidas para la curva de calibración

Ácido ascórbico	Absorbancia
blanco	3,495
1	3,143
2	2,805

3	2,48
4	2,089
5	1,645
6	1,434
7	0,856

Fuente: Autor

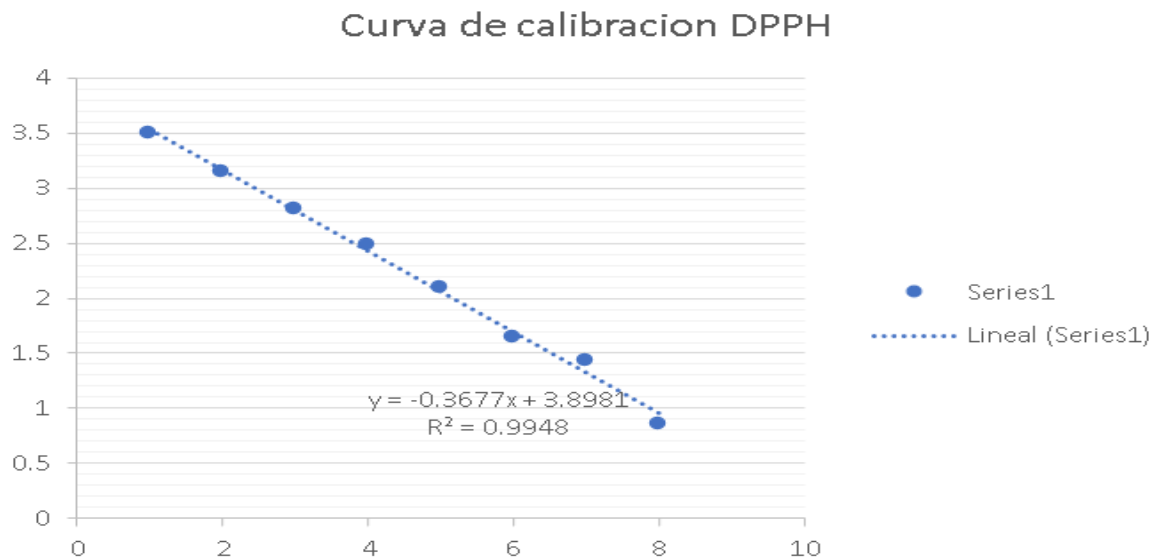


Figura 47 Curva de calibración DPPH

Fuente: Autor

El análisis de la actividad antioxidante con la muestra de semilla de aguacate contra el radical DPPH fue realizado mediante absorbancia. Se observó que el tratamiento de liofilizado en las semillas permitió disminuir la cantidad de agua contenida en estas, lo que conlleva a un incremento en el tiempo de conservación.

En estudio realizado por (UNIBE, 2022), utilizando la metodología DPPH, entre el ácido ascórbico y extracto de semilla de aguacate, se elaboraron las curvas de calibración para ambos casos, los valores de IC50 (el 50% de la concentración inhibitoria máxima, es decir, parámetro que utiliza para medir la capacidad inhibitoria de una sustancia sobre la evolución biológica), se obtuvieron los siguientes resultados: para el ácido ascórbico el IC50 fue de 3,20 mg/L y para la semilla de aguacate, se obtuvo 0,11 mg/L. Esto significa que el potencial antioxidante de la semilla de aguacate es siete (07) veces más elevado, esto se asocia al contenido de compuestos fenólicos, lo que es un gran aporte para futuros estudios de los efectos antioxidantes de la semilla de aguacate en el cuerpo humano.

Metodología Folin-Ciocalteu

Tabla 7 Concentración de muestras con respecto a la absorbancia

Muestras	Absorbancias	Concentración de las muestras ($\mu\text{g/ml}$)
M1. Triturado propio	0.894	18.747
M2. Liofilizado propio	1.811	38.15
M3. Triturado común	0.943	19.76
M4. Liofilizado común	1.595	33.58

Fuente: Autor

Tabla 8 Absorbancias obtenidas para la curva de calibración de Folin-Ciocalteu

Dilución	Absorbancia
10	0,0116
20	0,409
30	0,874
40	1,459
50	1,801

Fuente: Autor

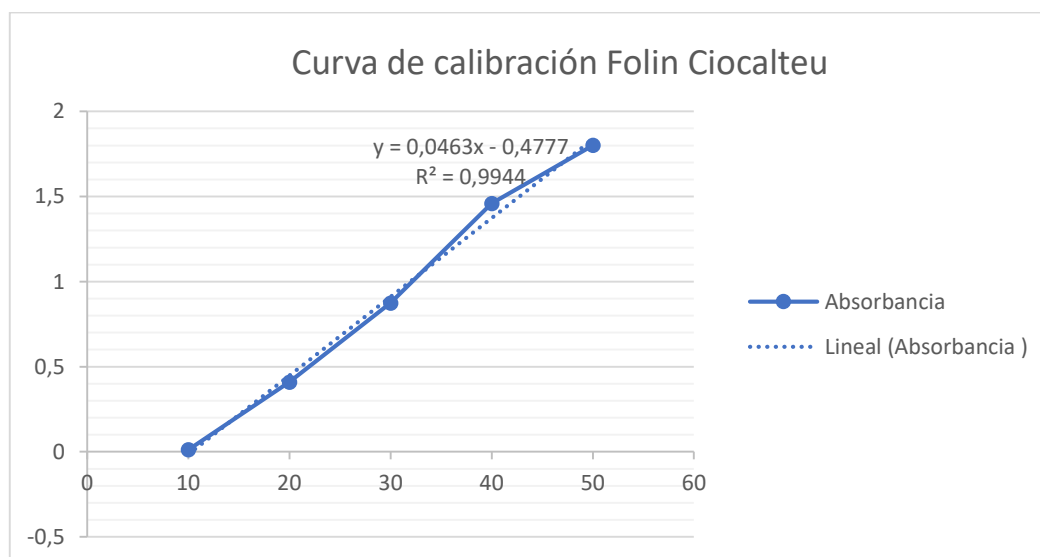


Figura 48 Curva de calibración Folin Ciocalteu

Fuente: Autor

La ecuación lineal de la absorbancia es: $y = 0,0463 x - 0,4777$; obtenida con la aplicación del software Minitab Statistical con un coeficiente de determinación $R^2 = 0,9944$, lo que indica que la ecuación se ajusta al modelo de los datos, debido a que se acerca a valor de uno (01), la utilidad de obtener la ecuación, radica en poder conocer para cualquier valor de dilución, la correspondiente absorbancia.

Similar investigación fue publicada por Bermúdez, Pacheco y Blanco (2020), utilizando un procedimiento por colorimetría de Folin Ciocalteu, donde prepararon diluciones de 50, 100,150, 200 y 250 $\mu\text{g/mL}$, partiendo de una solución patrón de ácido gálico con una concentración de 500 $\mu\text{g/mL}$, obteniendo una elevada concentración de compuestos fenólicos totales ($53,12 \pm 1.35$), presentes en las semillas de aguacate de la diversidad Fuerte y Hass. En investigación efectuada por Albarrán *et al.*, (2014), la cual tuvo como objeto realizar la evaluación de la actividad antioxidante de pulpa de varias frutas, donde estuvo contemplada la *Persea americana*, se encontró que la inhibición oxidativa y el aumento del crecimiento celular tenía una relación directa con la concentración de los compuestos fenólicos existentes en la muestra analizada.

4.2.3. Análisis Estadístico

Análisis exploratorios

Con la ayuda del software STATA 14.0 se realizaron los análisis estadísticos del presente estudio, con un α de 0.05, el cual funciona apropiadamente y un nivel de confianza al 95%. Un nivel de significancia de 0.05 indica un riesgo de 5% de concluir que existe una diferencia cuando no hay una diferencia real, este análisis exploratorio sirve para aceptar o rechazar la hipótesis nula

En primer lugar, se obtuvieron los promedios y la desviación estándar de las absorbancias de las muestras y sus réplicas (4), denominadas: E1 para la muestra M1 y así sucesivamente, como se muestra en la tabla 8, de estos valores se obtuvieron, el mínimo, el promedio, el máximo y la desviación estándar, ver tabla 10.

Tabla 19 Análisis exploratorios de Absorbancias, valores de las réplicas y sus concentraciones

M1		M2		M3		M4	
E1-1= 0,872	C1-1=18,57	E2-1=0,9	C2-1=37,30	E3-1=0,922	C3-1=19,20	E4-1=1,52	C4-1=32,90
E1-2=0,877	C1-2=18,60	E2-2=1,25	C2-2=37,42	E3-2=0,925	C3-2=19,35	E4-2=1,5285	C4-2=33,10
E1-3=0,888	C1-3= 18,69	E2-3=1,7	C2-3=37,85	E3-3=0,935	C3-3=19,65	E4-3=1,566	C4-3=33,45
E1-4=0,894	C1-4=18,75	E2-4=1,8	E2-4=38,15	E3-4=0,943	C3-4=19,80	E4-4=1,595	C4-4=33,60
E1-PROM=0,882	C1-PROM=18,63	E2-PROM=1,6	C2-PROM=37,54	E3-PROM=0,928	C3-PROM=19,50	E4-PROM=1,537	C4-PROM=33,30

A saber:

Muestra 1. Triturado propio,

De las réplicas realizadas a la muestra 1 (**E1**), el valor mínimo obtenido fue de 0,872, el valor promedio fue 0,882, el valor máximo de 0,894. Asimismo, se procesaron cada una de las cuatro (04) muestras y sus respectivas réplicas. Los valores máximos, mínimos y promedios, se muestran en la tabla 9 para un mejor entendimiento de los resultados, en la cual, se puede observar que el ensayo de absorbancia 2, **E2** fue el que obtuvo un mayor valor promedio (1,6) frente a los otros ensayos, al igual que la mayor desviación estándar (0,4), además, la concentración con mayor valor promedio (37.54), corresponde a la muestra 2.

Tabla 20 Análisis exploratorios de Absorbancias, media y desviación estándar

	E1	E2	E3	E4
MÍNIMO	0,872	0,9	0,922	1,52
PROMEDIO	0,882	1,6	0,928	1,537
MÁXIMO	0,894	1,8	0,943	1,595
N	5	5	5	5
sd	0,008	0,4	0,009	0,033

Fuente: Autor

*E= Número de réplica, sd= desviación estándar

En la tabla 12, se indican los análisis exploratorios de los tratamientos, se puede apreciar que el tratamiento trituración propia presentó el menor promedio 0.8857 y la menor desviación estándar en comparación con los otros tratamientos. Debido a que este estadístico es un indicativo de qué tan dispersos se encuentran los resultados obtenidos referidos al valor promedio, estos son los datos que muestran mayor consistencia (a menor desviación estándar, mayor consistencia). Sin embargo, es importante observar, que el mayor valor promedio lo muestra el tratamiento de Liofilización, con una desviación estándar baja, por lo que, para corroborar lo expuesto anteriormente se realizó el análisis de la normalidad con los datos de absorbancia y concentración de las muestras, obteniendo gráficas de cajas y bigotes (Gráfico 3) en donde se puede observar que el tratamiento de Liofilización propia presenta el mayor promedio de absorbancia.

Tabla 21 Análisis exploratorios de los tratamientos

Tratamientos	Promedio	DS	Frecuencia
---------------------	-----------------	-----------	-------------------

Trituración propia	0.8857	0.0072	3
Liofilización propia	1.8063	0.0569	3
Trituración común	0.9327	0.1050	3
Liofilización común	1.5483	0.0407	3
Total	1.2933	0.4131	12

Fuente: Autor



Figura 49 Gráfica de caja y bigotes

Fuente: Autor

A continuación, se puede observar la gráfica 4 de distribución normal acorde al test de SHAPIRO WILK que mostró que el valor p es igual a 0,00765, ($P(x \leq 2,425) = 0,9923$). Así mismo, los supuestos de normalidad que incluyen la distribución de varianzas de Levene mostraron significancia de p mayor a 0.05, lo que representa una homogeneidad en las varianzas.

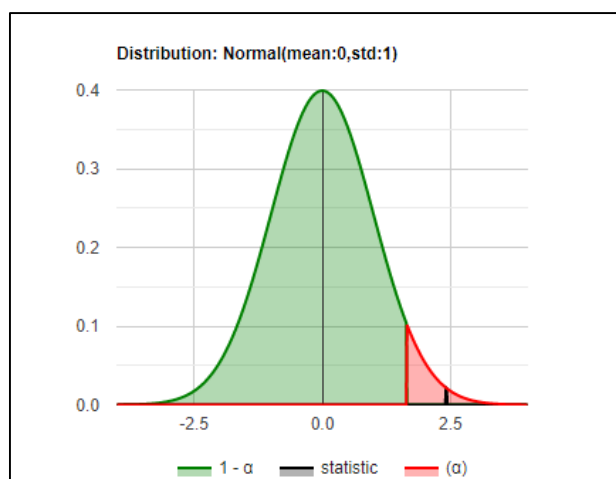


Figura 50 Curva de distribución normal de los datos

Fuente: Autor

Una vez determinada la normalidad de los datos del presente estudio, se procedió a determinar la eficiencia en la extracción de antioxidantes mediante los tratamientos de secado de la semilla de aguacate, para lo cual se aplicó Anova de una (01) vía, obteniendo una diferencia estadísticamente significativa entre los grupos de tratamientos, con un valor $p < 0.05$, con lo cual se rechaza la hipótesis nula en donde se establecía que no hay diferencias entre las varianzas medias de los grupos.

Tabla 22 Prueba Anova

Fuente	SS	df	MS	F	Prob>F
Entre grupos	1.873	3	0.624	1347.77	0.0001
Dentro de los grupos	0.004	8	0.000	--	--
Total	1.877	11	0.171	--	--

Fuente: Autor

Para determinar cuál de los grupos era diferente se aplicó la prueba post-hoc de TUKEY, y se evidenció que únicamente el tratamiento de triturado común (3) vs triturado propio (1) no presentó diferencias estadísticamente significativas. Por otra parte, los tratamientos de liofilizado común y propio si mostraron estas diferencias.

Tabla 23 Prueba de Tukey

	Contraste	Error Estándar	t	P> t
2 vs 1	0.92067	0.0176	52.38	0.000
3 vs 1	0.04700	0.0176	2.67	0.105
4 vs 1	0.66267	0.0176	37.7	0.000
3 vs 2	-0.87367	0.0176	-49.71	0.000
4 vs 2	-0.25800	0.0176	-14.68	0.000
4 vs 3	0.61567	0.0176	35.03	0.000

Fuente: Autor

En investigaciones previas, por ejemplo, la realizada por FODECYT (2006) afirman que la semilla reveló una elevada capacidad antioxidativa.

Comparación las propiedades antioxidantes de la semilla de aguacate y del ácido cítrico como conservantes, observando las cualidades organolépticas al ser aplicados en jugo de manzana.

Para hacer el jugo se pesaron 150 g de manzana en 200 mL de agua, más 15 mL de extracto y dos (02) cucharadas de azúcar blanca.

Para el jugo con ácido cítrico se pesaron 150 g de manzana en 200 mL de agua más 1g de ácido cítrico y dos (02) cucharadas de agua

Mediante color olor y sabor que se registró después de una hora de haberse añadido el extracto en los 4 jugos, se observó que solo uno de los 4, el que tenía el extracto liofilizado propio fue el que presentó retardo en la oxidación del jugo a diferencia de los demás, además esto se comparó con un jugo al que no se le agregó ningún extracto y con otro jugo al que se le añadió el ácido cítrico.

En cuanto al sabor se vio afectado debido al etanol que se utilizó como solvente para realizar la extracción por lo que daña las características organolépticas del jugo. El olor fue otro factor que se ve alterado debido a la interacción con el solvente por el fuerte olor que este aporta a la formulación del jugo.

Para profundizar más en el impacto del conservante en el jugo de manzana, se seleccionaron al azar 25 personas en rango de edades de 20 – 30 años, en la localidad de General Plaza, Limón Indanza, Morona Santiago, Ecuador, y se les pidió llenar una encuesta después de ofrecerles degustar el jugo con el conservante natural de semilla de

aguacate y contrastar con el uso del conservante convencional de Ácido Cítrico.

El formato de encuesta empleado fue el siguiente:

Encuesta de características organolépticas del jugo de manzana en interacción con los extractos de semilla de aguacate obtenidos

Muestra _____

Objetivo

Comparar las propiedades antioxidantes de la semilla de aguacate y del ácido cítrico como conservantes, observando las propiedades organolépticas al ser aplicados en jugo de manzana.

Instrucciones:

- Pruebe el jugo con el conservante convencional (ácido cítrico)
- Enjuague su paladar con agua natural
- Pruebe el jugo con el conservante natural extraído de la semilla de aguacate

Características Organolépticas

1. Color
 - Claro
 - Característico
 - Oscuro
2. Olor
 - Nada perceptible
 - Poco perceptible
 - Perceptible
 - Muy perceptible
3. Sabor
 - Muy desagradable
 - Desagradable
 - No agrada ni desagrada
 - Agradable
 - Muy agradable
4. Textura
 - Poco líquida
 - Líquida
 - Normal
 - Espesa
 - Muy espesa
5. Aceptación
 - Prefiere el conservante convencional (Ácido Cítrico)
 - Prefiere el conservante natural (Extracto de semilla de aguacate)

Figura 51 Formato de Encuesta

Como se muestra en el formato de la encuesta esta contó con instrucciones para que los encuestados sigan el mismo proceso de prueba de muestras y el resultado sea lo más exacto.

Se recalca que el experimento tuvo 4 muestras, como las son TC (Triturado Común), LC (Liofilizado Común), TP (Triturado Propio), LP (Liofilizado Propio)

Interpretación de resultados de la encuesta realizada de características organolépticas

Muestra: Jugo de manzana + TC – Triturado Común

Color

- *Claro*
- *Característico*
- *Oscuro*

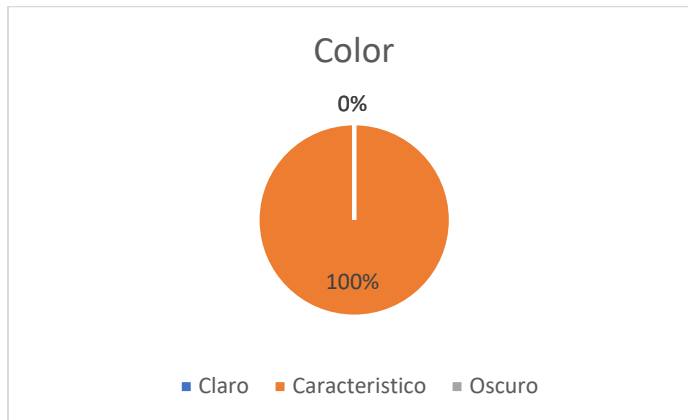


Figura 52 Muestra TC - Color

Para el jugo de manzana con el extracto de la semilla TC, el 100% de los encuestados concluyeron que el jugo tenía un color característico propio de la manzana natural, demostrando que la adición del extracto TC no cambia esta característica organoléptica,

Olor

- *Nada Perceptible*
- *Poco Perceptible*
- *Perceptible*
- *Muy Perceptible*

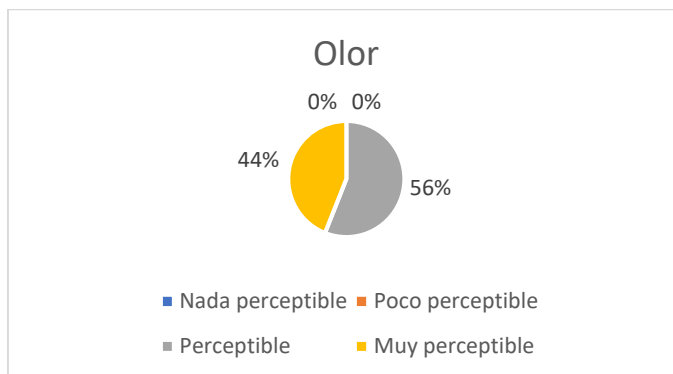


Figura 53 Muestra TC - Olor

Al observar el gráfico se concluye que la adición del extracto TC influye en un

44% encontró muy perceptible el olor y pudo resultar negativo en la opinión del extracto, mientras que al 56% del público entrevistado que percibió el olor no le resultó extraño.

Sabor

- *Muy desagradable*
- *Desagradable*
- *No agrada ni desagrada*
- *Agradable*
- *Muy agradable*

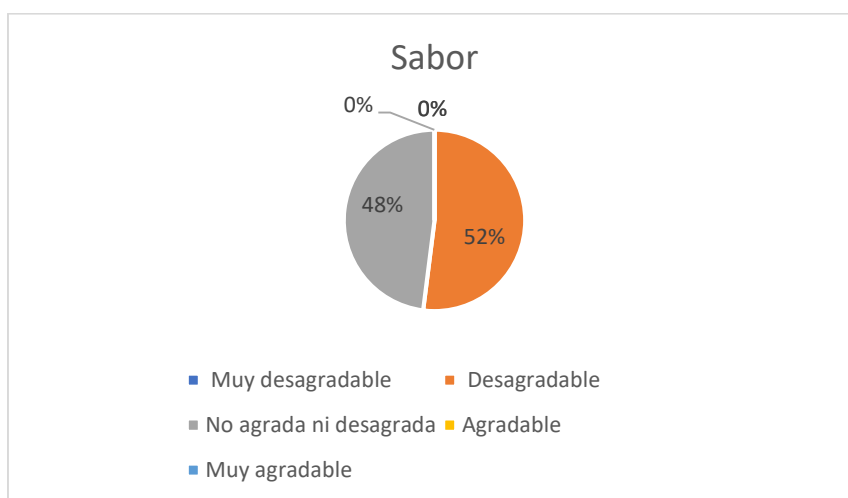


Figura 54 Muestra TC - Sabor

En cuanto al sabor del jugo con el extracto TC un 52% de los encuestados estuvo de acuerdo que tenía un sabor desagradable, y aun 48% no le afectó el sabor que el extracto pudo haberle brindado al jugo además de ya este poseer un sabor propio a manzana natural

Textura

- *Poco líquida*
- *Líquida*
- *Normal*
- *Espesa*
- *Muy Espesa*

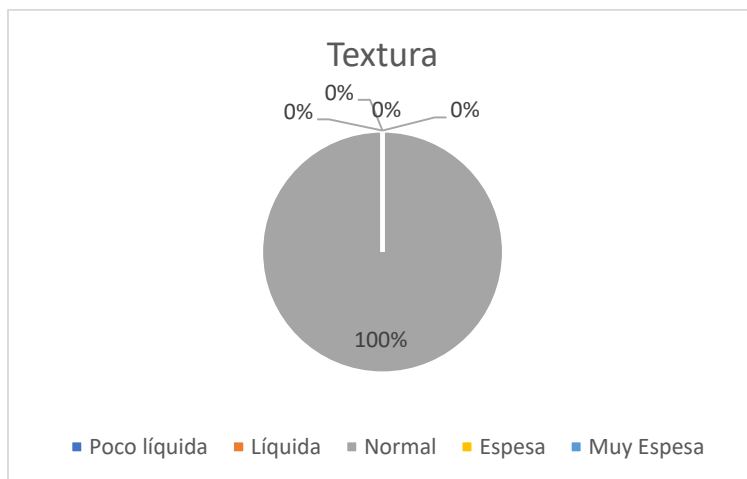


Figura 55 Muestra TC - Textura

Para el 100% del público la textura del jugo de manzana no se vio afectado por la adición de el extracto TC, presentado una textura normal e igual a la del jugo natural de manzana.

Aceptación

- *Prefiere el conservante convencional (ácido cítrico)*
- *Prefiere el conservante natural (Extracto de semilla de aguacate)*

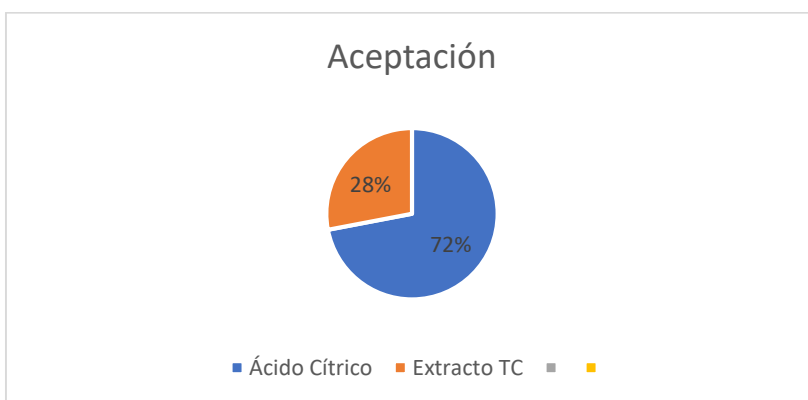


Figura 56 Muestra TC - Aceptación

En este caso para este extracto añadido al jugo de manzana tan solo un 28% de los encuestados respondieron que preferían el conservante obtenido a partir de la semilla de aguacate

Muestra: Jugo de manzana + LC (Liofilizado Común)

Color

- *Claro*
- *Característico*
- *Oscuro*

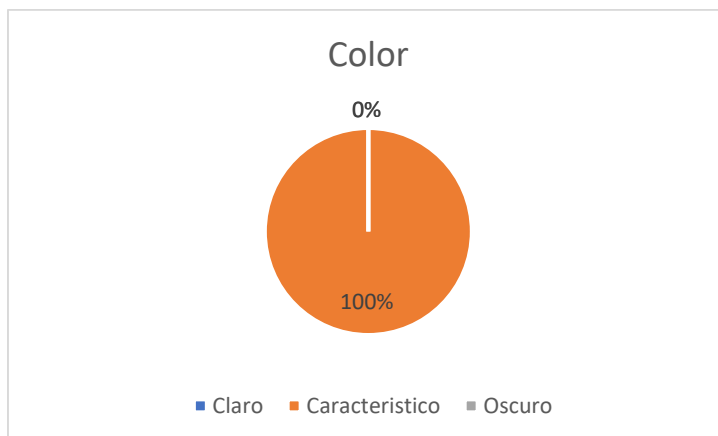


Figura 57 Muestra LC - Sabor

Para el jugo de manzana con el extracto LC, el 100% de los encuestados concluyeron que el jugo tenía un color característico propio de la manzana natural, demostrando que la adición del extracto LC no cambia esta característica organoléptica,

Olor

- *Nada Perceptible*
- *Poco Perceptible*
- *Perceptible*
- *Muy Perceptible*

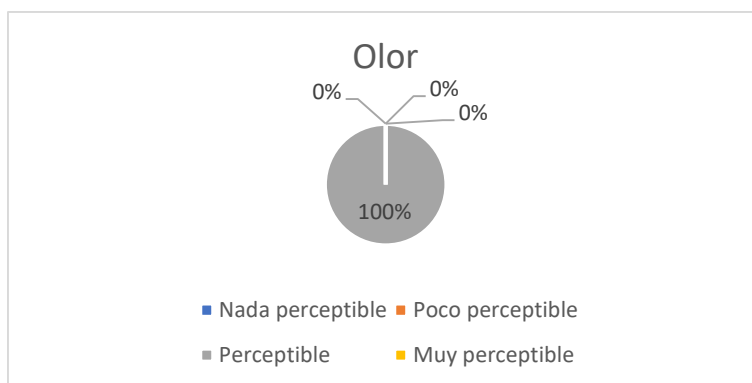


Figura 58 Muestra LC - Olor

Al observar el gráfico se concluye que la adición del extracto LC influye en el 100% de los encuestados puesto que en el jugo de manzana con el extracto LC el olor de este último se pudo percibir notoriamente

Sabor

- *Muy desagradable*
- *Desagradable*

- *No agrada ni desagrada*
- *Agradable*
- *Muy agradable*

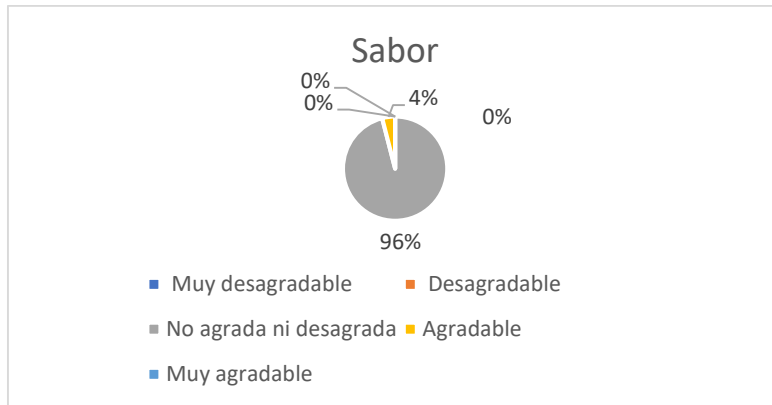


Figura 59 Muestra LC - Sabor

En cuanto al sabor del jugo con el extracto LC un 96% de los encuestados estuvo de acuerdo en que el conservante no aportaba un sabor específico al jugo, y con un 4% afirmó que el sabor se vio afectado por el extracto mejorando su sabor.

Textura

- *Poco líquida*
- *Líquida*
- *Normal*
- *Espesa*
- *Muy Espesa*

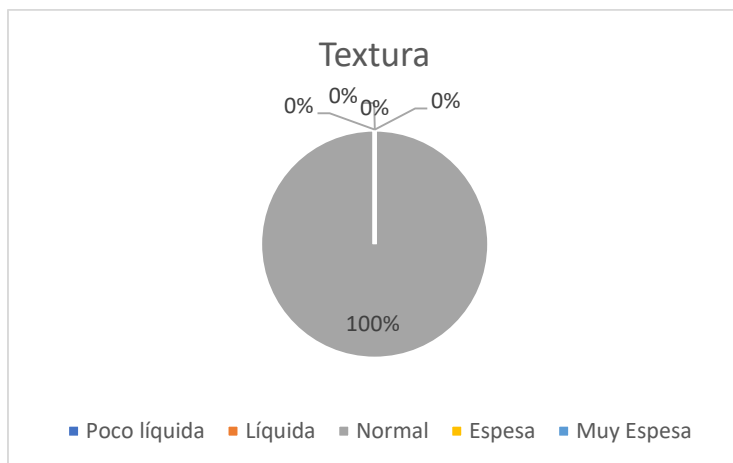


Figura 60 Muestra LC - Textura

Para el 100% del público la textura del jugo de manzana no se vio afectado por la adición de el extracto LC, presentado una textura normal e igual a la del jugo natural de manzana.

Aceptación

- *Prefiere el conservante convencional (ácido cítrico)*
- *Prefiere el conservante natural (Extracto de semilla de aguacate)*



Figura 61 Muestra LC - Aceptación

En este caso para este extracto añadido al jugo de manzana un 88% de los encuestados aprueban el uso del conservante obtenido a partir de la semilla de aguacate, mientras el 12% prefiere el conservante convencional.

Muestra: Jugo de manzana + TP (Triturado Propio)

Color

- *Claro*

- *Característico*
- *Oscuro*

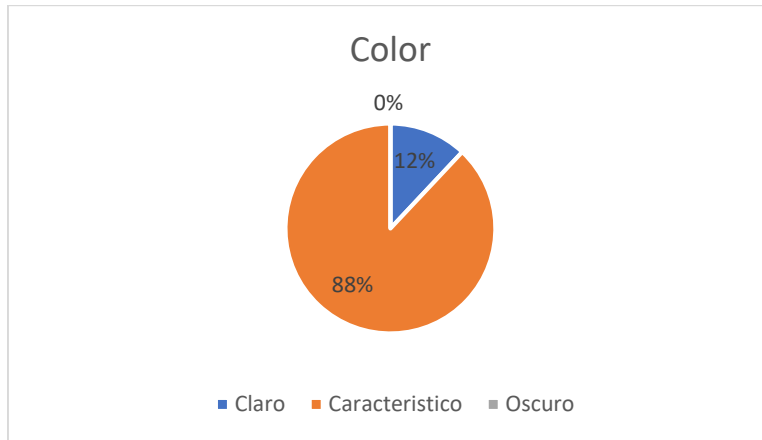


Figura 62 Muestra TP - Color

Para el jugo de manzana con el extracto TP, el mayor porcentaje siendo el 88% de los encuestados concluyeron que el jugo tenía un color característico propio de la manzana natural, mientras el 12% restante observó un color más claro de lo normal.

Olor

- *Nada Perceptible*
- *Poco Perceptible*
- *Perceptible*
- *Muy Perceptible*

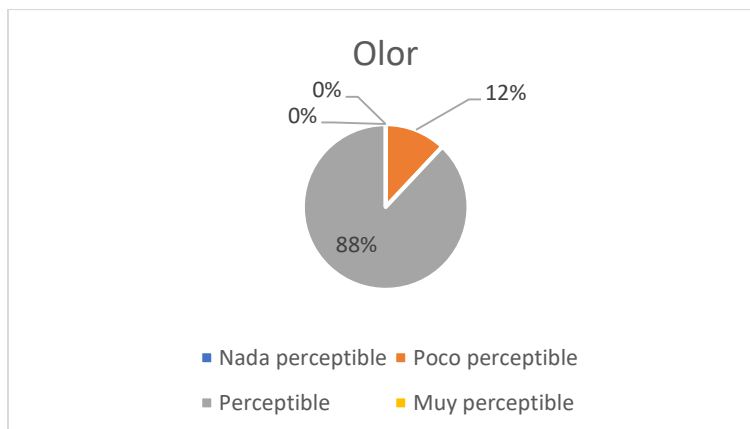


Figura 63 Muestra TP - Olor

Al observar el gráfico se concluye que la adición del extracto TP influye notoriamente en el olor del jugo de manzana, siendo el 88% de los encuestados los que encontraron perceptible al olor que aportó el conservante a la bebida, no obstante, el 12%

restante concluyeron que el olor en si no es fuerte, pero es notorio, por lo cual se concluye que el 100% de los encuestados perciben el olor que aporta el conservante natural de semilla.

Sabor

- *Muy desagradable*
- *Desagradable*
- *No agrada ni desagrada*
- *Agradable*
- *Muy agradable*

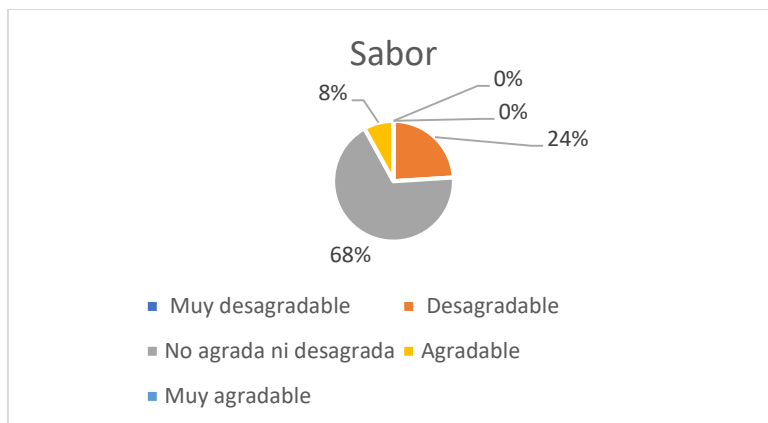


Figura 64 Muestra TP - Sabor

En cuanto al sabor del jugo con el extracto TP un 68% de los encuestados estuvo de acuerdo en que el conservante no aportaba sabor al jugo, pero un 24% afirmó que el sabor se vio afectado por el extracto volviéndolo desagradable al gusto y contrariamente un 2% afirmó que el sabor era agradable, por lo cual se pudo concluir que el sabor si se ve afectado en la bebida al añadir el conservante natural de la semilla de aguacate.

Textura

- *Poco líquida*
- *Líquida*
- *Normal*
- *Espesa*
- *Muy Espesa*

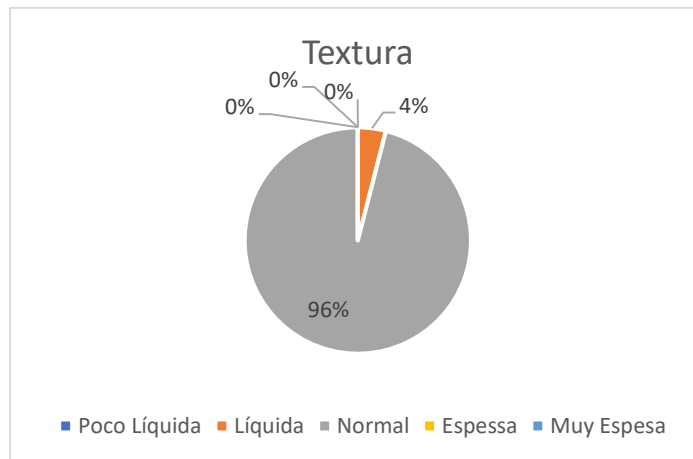


Figura 65 Muestra TP - Textura

Para el 96% del público la textura del jugo de manzana no se vio afectado por la adición de el extracto TP, presentado una textura normal e igual a la del jugo natural de manzana, pero una minoría del 4% notaron una textura más líquida de lo normal.

Aceptación

- *Prefiere el conservante convencional (ácido cítrico)*
- *Prefiere el conservante natural (Extracto de semilla de aguacate)*

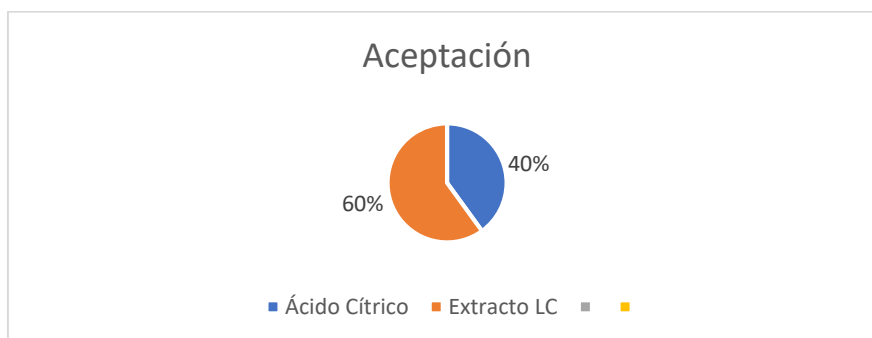


Figura 66 Muestra TP - Aceptación

En este caso para este extracto añadido al jugo de manzana un 60 de los encuestados tuvieron mayor aceptación para el uso del conservante obtenido a partir de la semilla de aguacate, mientras el % prefiere el conservante convencional.

Muestra: Jugo de manzana + LP (Liofilizado Propio)

Color

- *Claro*
- *Característico*
- *Oscuro*

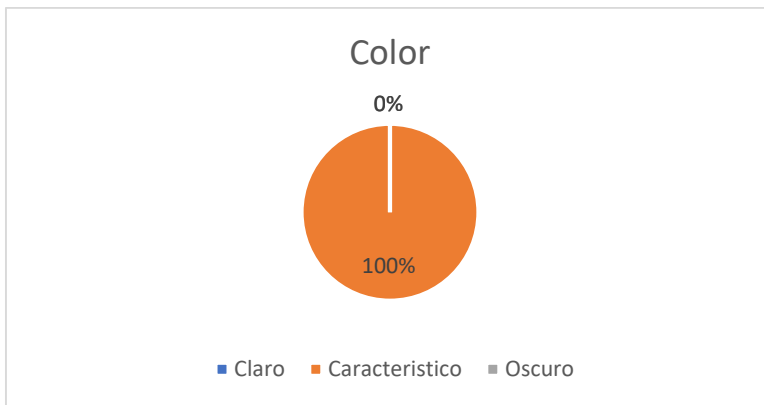


Figura 67 Muestra LC - Color

Para el jugo de manzana con el extracto LP, el porcentaje siendo el 100% de los encuestados concluyeron que el jugo tenía un color característico propio de la manzana natural, dando alusión a que el conservante no influyó en el color de la bebida.

Olor

- *Nada Perceptible*
- *Poco Perceptible*
- *Perceptible*
- *Muy Perceptible*

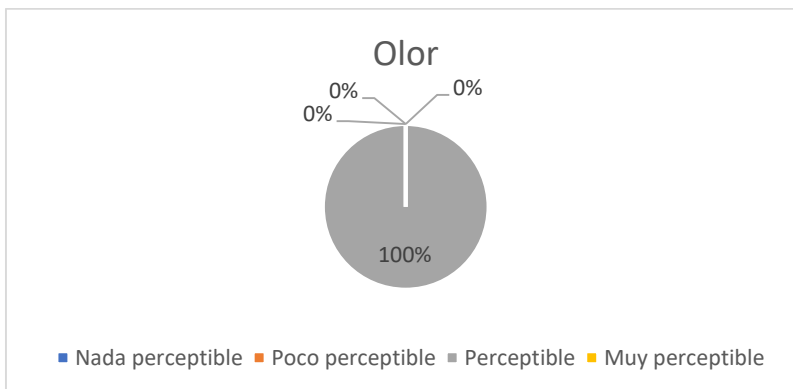


Figura 68 Muestra TP - Olor

Al observar el gráfico se concluye que la adición del extracto LP influye notoriamente en el olor del jugo de manzana, siendo el 100% de los encuestados los que encontraron perceptible al olor que aportó el conservante a la bebida.

Sabor

- *Muy desagradable*
- *Desagradable*

- *No agrada ni desagrada*
- *Agradable*
- *Muy agradable*

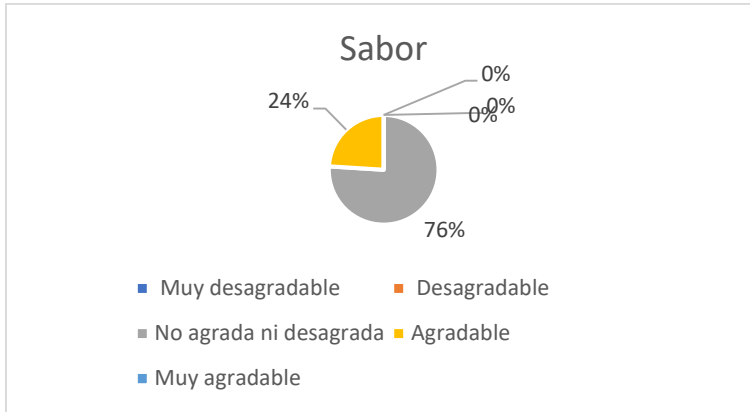


Figura 69 Muestra TP - Sabor

En cuanto al sabor del jugo con el extracto LP un 76% de los encuestados estuvo de acuerdo en que el conservante no aportaba sabor al jugo, pero un 24% afirmó que el sabor se vio afectado por el extracto volviéndolo agradable al gusto por lo cual se pudo concluir que el sabor si se ve afectado en la bebida al añadir el conservante natural de la semilla de aguacate.

Textura

- *Poco líquida*
- *Líquida*
- *Normal*
- *Espesa*
- *Muy Espesa*

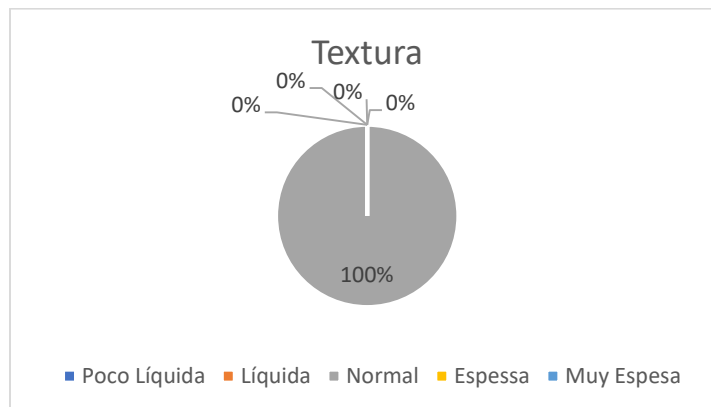


Figura 70 Muestra TP - Textura

Para el 100% del público la textura del jugo de manzana no se vio afectado por la adición de el extracto TP, presentado una textura normal e igual a la del jugo natural de manzana.

Aceptación

- *Prefiere el conservante convencional (ácido cítrico)*
- *Prefiere el conservante natural (Extracto de semilla de aguacate)*



Figura 71 Muestra TP - Aceptación

En este caso para este extracto añadido al jugo de manzana un 64% de los encuestados tuvieron mayor aceptación para el uso del conservante obtenido a partir de la semilla de aguacate, mientras el 36% prefiere el conservante convencional.

Discusión

Una vez que se realizaron los ensayos a las diferentes muestras tipificadas como M1, M2, M3 y M4, se pudo observar que hubo dos (02) tratamientos con elevado valor de desviación estándar, por lo cual se realizaron los análisis estadísticos anteriormente señalados. Los valores obtenidos en la prueba de Folin Ciocalteu revelaron la presencia de compuestos fenólicos en todas las muestras, lo que es indicativo de la capacidad antioxidante del extracto de semilla de aguacate, afirmación que puede ser apoyada por estudios previos como el realizado por FODECYT (2006) donde concluyen que la concentración de polifenoles es alta, así como su idoneidad como antioxidante, y confirmada con la presente investigación.

Según Belete, Hailu, y Gebrie. (2019), el consumo de aguacate (*Persea americana Mill*) ha aumentado en todo el mundo en los últimos años. Parte de este alimento (piel y semilla) se pierde durante el procesamiento. Sin embargo, una alta proporción de sustancias bioactivas, como los polifenoles, permanecen en este residuo. Sus actividades biológicas tales como actividades antioxidantes, antihipertensivas, fungicidas, larvicidas,

hipolipidémicas, amebicidas y giardicidas han sido reportadas. Por lo tanto, se puede concluir que, la semilla de aguacate es valiosa nutricionalmente como las demás partes de la planta en base a los fitoquímicos y nutrientes que la constituye.

Autores como Segovia y otros (2014) señalan que el extracto liofilizado se utilizó como protección de la oxidación de aceites (emulsiones de aceite en agua) y grasas (hamburguesas de res) con excelentes resultados, especialmente en carnes, en las que la durabilidad de la carne de las hamburguesas aumenta significativamente con respecto a la oxidación

De la misma manera, Tremocoldi y colaboradores (2018), sugieren que para determinar de manera más efectiva la cantidad de polifenoles, la técnica de la extracción ultrasónica fue muy efectiva ya que disminuyó el tiempo de procesamiento, redujo el costo de extracción, evitó el daño térmico y mejoró la cantidad de compuestos bioactivos. Así, los extractos de cáscara y semilla de aguacate se obtuvieron mediante esta técnica. y una solución que contiene etanol/agua (80/20, v/v), porque este es un solvente favorable en la extracción de sustancias polares como compuestos fenólicos, no tiene efectos tóxicos sobre los seres humanos, y es respetuoso con el medio ambiente.

Conclusiones y Recomendaciones

Conclusiones

Se determinó que la capacidad antioxidante de la semilla de aguacate tuvo un efecto positivo en la bebida de manzana ya que retardó la oxidación del jugo, al menos 6 horas al igual que el conservante convencional, pero en base a la bibliografía y al trabajo expuesto, el método de extracción y el tratamiento previo que se le dé a la semilla de aguacate influyó directamente en la eficacia del conservante obtenido.

Se observó que el tratamiento que se le dé a la semilla influye en la eficacia del conservante, así, la diferencia entre las semillas que fueron secadas por liofilización y las que no sufrieron ese proceso fueron notorias, debido principalmente al olor y sabor que aportaron al jugo, como se vio reflejado en las encuestas, a pesar de que todos los tratamientos añadieron algún cambio a las características organolépticas del jugo de manzana natural, las que fueron liofilizadas mantuvieron un efecto agradable en su adición al jugo.

En comparación al conservante convencional de base Ácido Cítrico, el extracto

de semilla de aguacate cumplió con la función de retrasar la oxidación del jugo de manzana, pero en vista de que afectó las características organolépticas del jugo se concluye que el uso del extracto debe ser considerado la concentración de este de modo que no afecte a las características organolépticas.

Con la información recopilada, analizada y procesada se concluyó con la elaboración de un artículo científico, de tal manera que se exprese brevemente lo estudiado y demostrado en este trabajo.

Recomendaciones

Realizar una investigación haciendo uso de la técnica de extracción ultrasónica para comparar los resultados que se obtendrían, con los hallazgos de esta investigación.

En el ensayo de lixiviación se debe controlar el solvente a utilizar, la temperatura y el proceso de triturado de la semilla de aguacate.

En cuanto al proceso de liofilización, poner especial atención a la calidad de la semilla de aguacate a liofilizar, al proceso de congelación y a la calidad del aire del lugar donde se está desarrollando el proceso, es decir, debe realizarse en un ambiente vigilado.

Verificar la dosificación correcta del conservante en la adición al producto perecedero, cuidando así las características organolépticas de cualquier producto.

Bibliografía

- Alarcón, T. (2011). *Actividad antioxidante y biológica de extractos de maíz azul (Zea mays L.)*. [Para optar al Título de Magister], Universidad Veracruzana, Veracruz.
- Albarrán, G., Mendoza, E., & Beltrán, J. (2014). Influence of concentration on the radiolytic decomposition of thiamine, riboflavin, and pyridoxine in aqueous solution. *Revista Colombiana de química*, 3, 43. Obtenido de file:///C:/Users/USUARIO/Downloads/Compuestosfenlicosoinhibicindelestrsoxi dativodeun.pdf
- Belete, T., Hailu, Z., & Gebrie, E. (2019). A Review on Avocado Seed: Functionality, composition, antioxidant. *Chemical Science International Journal*.
- Bermúdez, M., Pacheco, N., & Blanco, A. (13 de noviembre de 2020). Compuestos fenólicos e inhibición del estrés oxidativo de un extracto metanólico de semilla de

- aguacate (*Persea americana* Mill). *FAV-UNRC*, 6(3), 68-74. Obtenido de http://www.ayv.unrc.edu.ar/ojs/index.php/Ab_Intus/article/view/147/107
- Bressani. (2009). *La composición química, capacidad oxidativa y valores nutritivos de variedades de aguacate*. Informe Final, CONCIT, SENACYT, FONACYT, UVG, Guatemala.
- Cañas, G., Galindo, L., Arango, R., & Saldamando, C. (Ene-Jun de 2015). Diversidad genética de cultivares de aguacate (*Persea americana*) en Antioquia, Colombia. *Agronomía Mesoamericana*, 26(1).
- Daiuto, É., Tremocoldi, M., Alencar, S., Lopes, R., & Minarelli, P. (Junio de 2014). Composição química e atividade antioxidante da polpa e resíduos de abacate 'Hass'. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 36(2).
- Figuerola, J., Borrás, I., Lozano, J., & Segura, A. (2018, Marzo). Caracterización integral de compuestos fenólicos y otros compuestos polares en la semilla y cubierta de semilla de aguacate por HPLC-DAD-ESI-QTOF-MS. *Investigación Internacional de Alimentos*, 752-763.
- FODECYT. (2006). *La composición química, capacidad oxidativa y valor nutritivo de las semillas de variedades de aguacate*. Obtenido de <http://glifos.senacyt.gob.gt/digital/fodecyt/fodecyt%202006.02.pdf>
- Guija-Poma, E., Inocente-Camones, M., Ponce-Pardo, J., & Zarzosa-Norabuena, E. (Ene-Mar de 2015). Evaluación de la técnica 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo (DPPH) para determinar capacidad antioxidante. *Horizonte Médico (Lima)*, 15(1).
- Herrera, F. (2016). *OBTENCIÓN DE ANTIOXIDANTES A PARTIR DEL EPICARPIO DE CAFÉ (Coffea arabica L.) EMPLEANDO FLUIDOS PRESURIZADOS, UNA ALTERNATIVA DE APROVECHAMIENTO PARA ESTE RESIDUO AGROINDUSTRIAL*. PROYECTO DE GRADO PARA OPTAR AL TÍTULO DE

INGENIERO AMBIENTAL, UNIVERSIDAD LIBRE, Bogotá, Colombia.
Retrieved Febrero 08, 2022, from
<https://repository.unilibre.edu.co/bitstream/handle/10901/10362/OBTENCI%C3%93N%20DE%20ANTIOXIDANTES%20A%20PARTIR%20DEL%20EPICARPIO%20DE%20CAF%C3%89.pdf?sequence=1>

Martínez, L. (2020). *Evaluación de la obtención de un conservante de alimentos natural basado en extractos naturales obtenidos del ajo como la alicina*. Fundación Universidad de América, Bogotá.

Metodosdeseparaciondemezclas. (11 de Noviembre de 2020). *Métodos de Separación de Mezclas*. Recuperado el 15 de Febrero de 2022, de <https://metodosdeseparaciondemezclas.com/lixiviacion/>

Pérez Rosales, R., Villanueva Rodríguez, S., & Cosío Ramírez, R. (2005). El aceite de aguacate y sus propiedades nutricionales. *Sistema de Información Científica Redalyc*, 3(E-ISSN: 1665-5745).

Pérez, S., Ávila, G., & Coto, O. (Abril-Junio de 2015). El aguacatero (*Persea americana* Mill). *Cultivos Tropicales*, 36(2).

Segovia, F., Peiró, S., Gallego, M., Aini, N., & Pilar, M. (2014). Avocado Seeds: Extraction Optimization and Possible Use as Antioxidant in Food. *Antioxidants*, 439-454. Obtenido de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4665478/>

Tremocoldi, M., Rosalen, P., Franchin, M., & Massarioli, A. (2018). Exploration of avocado by products as natural sources of bioactive compounds. *Plos one*.

UNIBE. (2022). *Análisis fitoquímico de la semilla de Persea americana Mills (aguacate) y evaluación de su actividad antioxidante*. (U. d. Iberoamérica, Editor) Obtenido de <https://unibe.ac.cr/revistafarmacia/1110-analisis-fitoquimico-de-la-semilla-de-persea-americana->

Virtual Kitchens. (20 de Diciembre de 2020). *Liofilización de alimentos: Conoce todo de esta tendencia*. Obtenido de <https://virtualkitchens.mx/blog/liofilizacion-de-alimentos/>

Vivero, A., Valenzuela, R., Valenzuela, A., & Morales, G. (2019). Palta: compuestos bioactivos y sus posibles beneficios en salud. *revista chilena de nutricion*, 46(4).