

**UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS**

FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUIMICA

UNIDAD DE POSGRADO

**Caracterización del aceite de la semilla de palta *Persea  
Americana* Mill. Var. Hass fuerte y medición de su actividad  
antioxidante**

TESIS

Para optar el Grado Académico de Doctor en Farmacia y Bioquímica

AUTOR

Pedro Gonzalo Rengifo Gratelli

ASESOR

Mario Carhuapoma Yance

Lima – Perú

2014

## **DEDICATORIA**

***Este trabajo está dedicado a mi esposa Jenny y mi hija  
Jessica  
quienes inspiran mis pasos para cristalizar  
Mi desarrollo profesional***

## **AGRADECIMIENTO**

- A mi Asesor: Dr. Mario Carhuapoma Yance por sus invaluable y oportunos consejos.
- Al Mg. Luis Artica Mallqui por su apoyo incondicional durante los trabajos en el laboratorio.
- A los miembros del Jurado, en la persona del Dr. Fernando Quevedo Ganoza, por sus valiosas observaciones.

## **RECONOCIMIENTO**

A la Universidad del Centro del Perú por facilitar la realización de ensayos en el Laboratorio de Análisis Bromatológico y Nutricional.

A la Universidad Peruana Los Andes por los trabajos desarrollados en el Laboratorio de Bromatología.

## INDICE

DEDICATORIA  
AGRADECIMIENTO  
RECONOCIMIENTO  
ÍNDICE  
RESUMEN  
ABSTRACT  
RESUMO

### CAPÍTULO I

<b>INTRODUCCIÓN</b>	10
1.1 Situación problemática	10
1.2 Formulación del problema	12
1.3 Justificación teórica	12
1.4 Justificación práctica	13
1.5 Objetivos	14
1.5.1 Objetivo general	15
1.5.2 Objetivos específicos	15

### CAPÍTULO II

<b>MARCO TEÓRICO</b>	16
2.1 Marco filosófico o epistemológico de la investigación	16
2.2 Antecedentes	18
2.3 Bases teóricas	19
2.3.1 Aspectos históricos del origen de la palta	19
2.3.2 Razas de las paltas (Genoma)	19
2.3.3 Etimología del nombre común, nombre científico de la palta y descripción de la variedad Hass fuerte	22
2.3.4 Descripción morfológica y ecogeográfica de la palta	23
2.3.5 Producción y Exportación de palta	26
2.3.6 Composición química y usos del fruto	27
2.3.7 Composición química y usos de la semilla	31
2.3.8 Antioxidantes naturales	32

2.4 Marco conceptual	35
----------------------	----

<b>CAPÍTULO III</b> <b>DISEÑO METODOLÓGICO</b>	38
---	----

<b>CAPÍTULO IV</b> <b>RESULTADOS</b>	45
---	----

<b>CAPÍTULO V</b> <b>DISCUSIÓN</b>	56
---------------------------------------	----

<b>CAPÍTULO VI</b> <b>CONCLUSIONES</b>	70
---	----

<b>CAPÍTULO VII</b> <b>RECOMENDACIONES</b>	72
---	----

<b>CAPÍTULO VIII</b> <b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	73
---	----

**ANEXOS**

## RESUMEN

**Introducción.** Al aceite de palta se le considera benéfico para la salud por la presencia de ácidos grasos poliinsaturados. La semilla es un derivado descartado en la obtención industrial del aceite de pulpa y sería una fuente de ácidos grasos insaturados y otros fitoconstituyentes. **Objetivos.** Caracterizar al aceite de los cotiledones de la semilla de *Persea americana* Mill. Var. Hass Fuerte y medir su actividad antioxidante total y de las fracciones saponificable y no saponificable. **Metodología.** Al aceite obtenido por el método de Soxhlet se le caracterizó mediante el análisis de las propiedades físico químicas siguiendo las normas AOCS (Sociedad Americana de la Química del Aceite) y el análisis químico de contenido de fitoconstituyentes a través de un tamizaje fitoquímico y el perfil ácidos grasos mediante el método cromatográfico de gases. **Resultados.** La caracterización fisicoquímica reportó valores promedios y desviación estándar de  $2,12 \pm 0,015$ ;  $1,40 \pm 0,047$ ;  $242,30 \pm 5,449$ ;  $70,62 \pm 0,04$  y  $0,919 \pm 0,024$  para índice de acidez, índice de peróxido, índice de saponificación, índice de iodo y gravedad específica, respectivamente; con una significación  $p < 0,05$ ; se identificaron triterpenos, quinonas y trazas de lactonas, flavonoides, aminoácidos y compuestos fenólicos. El perfil de ácidos grasos permitió identificar dos ácidos grasos esenciales: ácido linoleico (48,77%) y ácido linolénico (12,17%), omega-6 y omega-3, respectivamente. Finalmente, se determinó la actividad antioxidante mediante el método de DPPH ( $\alpha, \alpha$ -difeníl- $\beta$ -picrilhidrazilo) encontrándose una actividad antioxidante total del aceite de  $9,676 \pm 0,260$   $\mu\text{mol TE/kg}$ . Mientras la fracción saponificable tuvo una actividad antioxidante de  $8,700 \pm 0,26$   $\mu\text{mol TE/kg}$ ; y la no saponificable fue de  $7,37 \pm 0,169$   $\mu\text{mol TE/kg}$ . **Conclusión:** El aceite caracterizado tiene una calidad comparable al aceite de oliva extra virgen, una elevada concentración de ácido linoleico y linolénico; y la actividad antioxidante del aceite se debería a la presencia de polifenoles y esteroides.

**Palabras clave:** *Persea americana*, aceite de cotiledón de semilla, omega-3, omega-6, actividad antioxidante.

## ABSTRACT

**Introduction.** Avocado oil is considered beneficial to health by the presence of polyunsaturated fatty acids. The seed is discarded in the industrial preparation of tall oil derivative and be a source of unsaturated fatty acids and other phytoconstituents. **Objectives.** Characterize the oil seed cotyledons of *Persea americana* Mill. Var. Hass Strong and measure both total and the saponifiable and unsaponifiable fractions antioxidant activity. **Methodology.** The oil obtained by Soxhlet Method it was characterized by analyzing the physicochemical properties by the AOCS (American Society of Chemical Oil) standards and chemical content analysis of phytoconstituents through a phytochemical screening and acids profile fatty by gas chromatographic method. **Results.** Physicochemical reported mean values and standard deviation of  $2.12 \pm 0.015$ ;  $1.40 \pm 0.047$ ;  $242.30 \pm 5,449$ ;  $70.62 \pm 0.04$  and  $0.919 \pm 0.024$  for acidity index, peroxide index, saponification index, iodine index and specific gravity respectively; with significance  $p < 0.05$ ; Triterpenes, Quinones and trace Lactones, Flavonoids, Amino acids and Phenolic compounds were identified. The fatty acid profile identified two essential fatty acids: Linoleic acid (48.77%) and Linolenic acid (12.17%), omega-6 and omega-3, respectively. Finally, the antioxidant activity was determined by the method of DPPH ( $\alpha$ ,  $\alpha$ -diphenyl- $\beta$ -picrilhidrazilo) meeting an overall antioxidant activity of the oil of  $9.676 \pm 0.260$  mol TE / kg. While saponifiable fraction had an antioxidant activity of  $8.700 \pm 0.26$  mol TE / kg; and unsaponifiable was  $7.37 \pm 0.169$  mol TE / kg. **Conclusion.** Characterized oil has a quality comparable to the extra virgin olive oil, it has a high concentration of Linoleic and Linolenic acid; and the antioxidant activity of the oil should due to the presence of polyphenols and steroids.

**Keywords:** *Persea americana*, seed oil, omega-3, omega-6, antioxidant activity.



## RESUMO

**Introdução.** O óleo de abacate é considerado benéfico para a saúde pela presença de ácidos graxos poli-insaturados. A semente é descartada na preparação industrial de óleo da polpa e é uma fonte de ácidos graxos insaturados e outros fitoconstituintes. **Objetivos.** Caracterizar o óleo dos cotilédones de sementes de *Persea americana* Mill. Var. Hass Forte e medir a atividade antioxidante total e as frações saponificável e insaponificável. **Metodologia.** O óleo obtido por método de Soxhlet caracterizou-se pela análise das propriedades físico-químicas pelos AOCS (Sociedade Americana da Química de Óleo) padrões e análise química de conteúdo de fitoconstituintes através de uma triagem e um perfil de ácidos graxos pelo método de cromatografia gasosa. **Resultados.** A caracterização Físico-química apresentaram valores médios e desvio padrão de  $2,12 \pm 0,015$ ;  $1,40 \pm 0,047$ ;  $242,30 \pm 5,449$ ;  $70,62 \pm 0,04$  e  $0,919 \pm 0,024$  para o índice de acidez, índice de peróxidos, índice de saponificação, índice de iodo e massa específica, respectivamente; com significância  $p < 0,05$ ; Foram identificados Triterpenes, Quinones e traços de lactonas, flavonóides, aminoácidos e compostos fenólicos. O perfil de ácidos graxos identificados dois ácidos graxos essenciais: ácido Linoléico (48,77%) e ácido Linolênico (12,17%), ômega-6 e ômega-3, respectivamente. Finalmente, a actividade antioxidante foi determinada pelo método de DPPH ( $\alpha$ ,  $\alpha$ -difeníl- $\beta$ -picrilhidrazilo) sendo encontrada uma actividade antioxidante global do óleo de  $9,676 \pm 0,260$  mol / kg de TE. Enquanto fração saponificável apresentou atividade antioxidante de  $8,700 \pm 0,26$  mol TE / kg; e insaponificável foi  $7,37 \pm 0,169$  mol TE / kg. **Conclusão.** O óleo caracterizado tem uma qualidade comparável por óleo extravirgem, uma concentração elevada de ácido linoleico e ácido linolênico; e a actividade antioxidante do óleo é devido à presença de polifenóis e esteróides.

**Palavras-chave:** óleo de semente de *Persea americana*, ômega-3, ômega-6, a atividade antioxidante.

# **CAPÍTULO I**

## **INTRODUCCIÓN**

### **1.1 Situación Problemática**

En las distintas actividades humanas, tanto domésticas como industriales, existe generación de residuos diversos que, a causa del volumen alcanzado y eventual peligrosidad, deben ser manejados adecuadamente con el fin de minimizar su impacto ambiental. Los residuos agroindustriales, a pesar de que no tienen carácter peligroso, pueden provocar problemas medioambientales importantes si no son dispuestos correctamente. Por tanto, la caracterización de los residuos es imprescindible no sólo con el fin de determinar la metodología apropiada para su disposición final, sino también para su evaluación como potenciales materias primas en otros procesos de producción o para la recuperación del potencial valor nutricional final. De este modo, es posible obtener productos a partir de residuos, aumentando la rentabilidad global del proceso productivo, contribuyendo así a la sostenibilidad de la actividad industrial y al mismo tiempo reduciendo sensiblemente el impacto medioambiental.

Los antioxidantes son sustancias que cuando están presentes en los alimentos o el organismo a concentraciones bajas que comparadas con un sustrato oxidable, retardan o previenen la oxidación de dicho sustrato. Los antioxidantes han sido utilizados para prevenir el deterioro de la calidad de los alimentos y mantener su valor nutracéutico. También son de importancia en la salud ya que ayudan a protegerse contra el daño causado por las especies de oxígeno reactivo y las enfermedades degenerativas.

Son conocidos por actuar a diferentes niveles en la secuencia oxidativa de las moléculas lipídicas. Pueden disminuir la concentración de oxígeno (interceptando al oxígeno singlete), previniendo la reacción de iniciación por un radical hidroxilo; secuestrar metales; y degradar los productos de oxidación primarios a compuestos estables. El grado de oxidación depende de la estructura química de los ácidos grasos involucrados y otros factores que favorecen a la reacción de oxidación (Naczki, M y Shahidi, F, 2006)<sup>1</sup>.

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

En estas frutas y hortalizas como en sus residuos existen fuentes importantes de vitaminas, carbohidratos, materias gelificantes (pectinas), materias antioxidantes, ácidos grasos, polifenoles, aromas y sabores que esperan su identificación y posterior explotación por la industria para elaborar productos novedosos y competitivos en el mercado. Por otro lado, dentro del desarrollo sostenible ambiental, la reutilización de los subproductos vegetales, permite que la industria otorgue un valor agregado a estos derivados y de esta forma evitar la contaminación ambiental.

La palta (*Persea americana* Mill) pertenece a la familia de las Lauráceas y es originaria de Guatemala, México y parte de Centro América. El fruto de forma periforme presenta tres razas, tiene un sabor agradable y es rico en nutrientes, produciéndose actualmente a nivel mundial (Bergh, B y Ellstrand, N., 1986)<sup>2</sup>. La palta ha sido reconocida como una buena fuente de energía, baja en calorías y sodio, con alto contenido de ácidos grasos insaturados,

vitamina E, ácido ascórbico, vitamina B<sub>6</sub>, β caroteno, y potasio (Ozdemir, F. y Topuz, A, 2004)<sup>3</sup>.

La potencial transferencia del producto de esta investigación -tipo aplicada- hacia las industrias alimentarias, cosméticas y farmacéuticas permitirían su incorporación a los productos alimenticios, cosméticos y nutracéuticos que la población lo requiere, especialmente destinado a niños y adultos mayores, mejorando así su estado nutricional y de salud y por ende su calidad de vida (Requejo A, 2003)<sup>4</sup>

## **1.2 Formulación del problema**

En el presente trabajo de investigación se ha formulado el siguiente problema general:

¿Cuál es el poder antioxidante del aceite de semilla de palta *Persea americana* Mill. Var. Hass fuerte?

## **1.3 Justificación teórica**

Los antioxidantes son sustancias que cuando están presentes en los alimentos o en el cuerpo a concentraciones bajas comparadas con las de un sustrato oxidable, retardan o previenen la oxidación de dicho sustrato. Los antioxidantes han sido utilizados para prevenir el deterioro de la calidad de los productos y mantener su valor nutricional. La ingesta de antioxidantes en la dieta cotidiana ayuda al cuerpo a protegerse contra el daño causado por las especies de oxígeno reactivo y las enfermedades crónico-degenerativas (Pokorny J, 1987)<sup>5</sup>.

Actualmente se conoce que los antioxidantes actúan a diferentes niveles de la secuencia oxidativa de las moléculas lipídicas, disminuyendo así la concentración del oxígeno (interceptando oxígeno singlete), previniendo la reacción de iniciación por un radical hidroxilo; secuestrar metales y degradar los productos de oxidación primarios a compuestos estables. El grado de oxidación depende de la estructura química de los ácidos grasos involucrados

y otros factores que favorecen la reacción de oxidación (Naczki, M y Shahidi, F, 2006).

En general, según Simic MG (1981)<sup>6</sup>, los antioxidantes naturales son sustancias que se presentan o pueden ser extraídas de los tejidos de plantas y animales y a aquellos que se forman durante el cocinado o procesado de compuestos alimenticios de origen vegetal o animal.

Los antioxidantes naturales se encuentran en prácticamente todas las plantas, microorganismos, hongos e incluso los animales. La mayoría son compuestos fenólicos, entre los cuales los grupos principales son los tocoferoles, los flavonoides y los ácidos fenólicos. Los tocoferoles y los tocotrienoles son el grupo de sustancias antioxidantes mejor conocidas ya ampliamente utilizadas (Pokorny J, 1987). Cada una de estas dos familias está formada cuatro isómeros ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  y  $\delta$ ), haciendo un total de ocho isómeros del tocoferol. El representante principal de este grupo es el  $\alpha$ -tocoferol, el cual tiene la capacidad de retardar la descomposición de los hidroperóxidos, aunque muestra menos actividad antioxidante que los otros isómeros. (Frankel EN, 1996)<sup>7</sup>.

Los flavonoides son un grupo de sustancias fenólicas formado por dos anillos aromáticos unidos por una cadena alifática de tres carbonos. Estas sustancias se encuentran en todos los tejidos de plantas superiores e incluyen las flavonas, los flavonoles, las isoflavonas, las flavononas y las chalconas. (White PJ, 1997)<sup>8</sup>

#### **1.4 Justificación práctica**

En el área andina se cultivan diversas frutas y hortalizas, entre las que se encuentra la palta. Usualmente esta fruta se consume en forma natural y sin mayor procesamiento. No se tiene información precisa y completa sobre su composición química y riqueza de nutrientes. De otro lado, la semilla de la palta es considerada como un desecho industrial que causa contaminación medioambiental. El conocimiento de la composición química tanto del

cotiledón de la semilla como del aceite de semilla de palta y especialmente la determinación de su poder antioxidante puede permitir la utilización de la semilla de palta y el aceite de la misma como materia prima por las industrias alimentarias, cosméticas y farmacéuticas para el diseño y producción de alimentos nutraceuticos, cosméticos y suplementos nutricionales en bienestar del estado nutricional y la salud de algunos grupos étnicos de nuestra población.

La semilla de palta en la actualidad constituye un descarte de los procesos de elaboración de pulpas y de aceite, constituyendo en el cv Hass alrededor del 12% del peso del fruto. La semilla de palta en la actualidad es un desecho de los procesos de elaboración de pulpa y aceite, constituyendo en la palta alrededor de 12% del peso del fruto. Olaeta J y col (2012)<sup>9</sup> desarrollaron un producto estruado tipo “snack” con una mezcla 40-60% harinas de semilla de palta-maíz.

Los ácidos grasos monoinsaturados se encuentran principalmente en aceites vegetales (en proporciones variables de mayor a menor en: aceite de oliva, ajonjolí, soya, girasol y algodón y en la palta. Estos ácidos monoinsaturados disminuyen la oxidación de colesterol LDL y cuando reemplazan los ácidos grasos saturados disminuyen el colesterol LDL sin mayor cambio en el colesterol HDL (Valenzuela B, 2005)<sup>10</sup>.

Con respecto a los ácidos grasos omega 6, existen controversias con el riesgo cardiovascular; sin embargo, la Asociación Americana del Corazón aprobó la ingesta de un mínimo de 5% al 10 % de energía en el contexto del estilo de vida y las recomendaciones dietéticas adecuadas; consideraron que reducir la ingesta de los omega 6, favorecería el aumento del riesgo cardiovascular en lugar de disminuirlo (Harris W *et al.*, 2009)<sup>11</sup>.

## **1.5 Objetivos**

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

### **1.5.1 Objetivo General**

Caracterizar al aceite de la semilla de *Persea americana* Mill. Var. Hass fuerte y medir su actividad antioxidante.

### **1.5.2 Objetivos Específicos**

1. Caracterizar las propiedades físicoquímicas y los principales constituyentes químicos del aceite de semilla de *Persea americana* Mill. Var. Hass fuerte.
2. Comprobar la actividad antioxidante del aceite de semilla de *Persea americana* Mill. Var. Hass fuerte.
3. Medir la actividad antioxidante de la fracción saponificable del aceite de semilla de *Persea americana* Mill. Var. Hass fuerte.
4. Medir la actividad antioxidante de la fracción insaponificable del aceite de semilla de *Persea americana* Mill. Var. Hass fuerte.

## **CAPÍTULO II**

### **MARCO TEÓRICO**

#### **2.1 Marco filosófico o epistemológico de la investigación**

Las profesiones de las ciencias de la salud existen porque hay enfermedades. Los profesionales de la salud deben estar alerta a los signos y síntomas que a menudo acompañan a la enfermedad y estar preparados para proponer alternativas de solución apropiadamente cuando se presentan estas situaciones. (Brody, H. 1992. *The Healer's Power* New Heaven. Yale University Press)<sup>12</sup>

Los farmacéuticos, como profesionales de la salud, toman decisiones principistas y morales que pueden afectar los propósitos humanos. Por siglos, la profesión farmacéutica proveyó servicios de valor fundamental para la sociedad. En julio de 1989 la Asociación Norteamericana de Farmacia elaboró una serie de recomendaciones que conforman una guía para que la educación farmacéutica pueda evolucionar y satisfacer las necesidades actuales de la profesión, de los sistemas de salud y de la sociedad. A continuación se transcribe el primer aspecto de la misión de la profesión farmacéutica: "1. Las profesiones existen para servir a la sociedad y la misión de la profesión farmacéutica debe centrarse en las necesidades de la sociedad y de cada paciente. La profesión farmacéutica es la que descubre, desarrolla, produce, distribuye e informa sobre drogas y medicamentos, productos farmacéuticos y sistemas de distribución de drogas." (Peretta M, 2005)<sup>12</sup>.



En el Perú, tradicionalmente la formación profesional farmacéutica se ha orientado al desempeño en torno al medicamento, el alimento y el tóxico; actualmente se han desarrollado áreas formativas tecnológicas y de especialidad, como los análisis bioclínicos, tecnología instrumental, cosmética y dermofarmacia y ecotoxicología. En este contexto, el programa de doctorado en Farmacia y Bioquímica de la Universidad Mayor de San Marcos, estableció dos líneas de investigación: medicamentos y alimentos.

El presente trabajo de investigación se sustenta en las bases epistemológicas con enfoque hipotético-deductivo en la línea de investigación sobre alimentos biofuncionales, debido a que el conocimiento está organizado en torno a conceptos, temas y principios, enfocados en supuestos (Díaz A, 2010)<sup>13</sup>

Entre los conocimientos supuestos sobre el objeto de estudio se tiene que la palta es el fruto, tipo baya, de un árbol fanerogámico y dicotiledóneo de la familia laurácea y cuyo nombre científico es *Persea americana* Miller. Esta planta fue domesticada por las culturas Maya y Azteca en Mesoamérica, durante el neolítico superior del Maya clásico, estudios arqueológicos tanto en México como en el Perú dejan evidencia de ello, lo que se remonta a por lo menos diez mil años.

Mediante técnicas de RAPD (Amplificación al Azar de ADN Genómico) se han identificado solo tres razas de *Persea americana* Miller: Mexicana, Guatemalteca y Antillana, las cuales presentan  $24 = 2n$  cromosomas diploides. A lo largo del último siglo se han desarrollado variedades por las polinizaciones cruzadas entre las dos primeras razas. Asimismo, la reproducción vegetativa de la palta ha permitido un rápido fitomejoramiento. Es así como, en California, Rudolph Hass, el año 1935 patentó la variedad "Hass", la cual era considerada "Fuerte" por su durabilidad en los anaqueles. Hoy en día se han desarrollado híbridos, mediante injertos de la variedad Hass y su producción mundial alcanza cerca del 80 por ciento debido a la eficiencia de su cultivo y la aceptación de su sabor (Requejo AM *et al.*,2003).

## 2.2 Antecedentes

Del Refugio M. *et al.* (2004)<sup>14</sup>, Dwaogu LA. *et al.* (2008)<sup>15</sup> y Takenaga F. (2008)<sup>16</sup> investigaron la composición química de ácidos grasos y otros fitoquímicos en la semilla de *Persea americana*, Identificando la presencia de ácidos grasos (linoleico, oleico, palmítico y esteárico), polifenoles (catequina, isocatequina, procianidina, flavonoides, taninos y proantocianidinas monoméricas), saponinas, glucósidos (D-perseit, D- $\alpha$ -manoheptit, D-monoheptulose, persiteol), esteroides ( $\beta$ -sitosterol, campesterol, estigmasterol, colesterol), el aminoácido carnitina y dos glucósidos de ácido abscísico.

Rodríguez-Carpena, JG. *et al.* (2011)<sup>17</sup> demostraron que las altas concentraciones de catequinas, procianidinas y ácido hidroxicinámico se han identificado recientemente en extractos con 100% de acetato de etilo (EtOAc), en extracto con 70% de acetona y con 70% metanol (MeOH). Estos extractos fueron obtenidos a partir de la piel y semillas de *Persea americana*. De otro lado, se determinó que el extracto de pulpa era rico en ácido hidroxibenzoico, ácido hidroxicinámico y procianidinas.

Trabajos de investigación desarrollados por Assolu, MF. *et al.* (2010)<sup>18</sup> e Imafidon KE y Amachina FC (2010)<sup>19</sup> demostraron el efecto hipolipemiante del extracto de metanol (MeOH) obtenido a partir de semillas de *Persea americana* aplicado a un modelo de investigación empleando ratas macho con hipercolesterolemia inducida.

Matsusaka Y. *et al.* (2003)<sup>20</sup>, Yean-Yean S. (2004)<sup>21</sup> y Asaolu (2010)<sup>22</sup> evaluaron la actividad antioxidante (AOA) y encontraron una actividad antioxidante importante en el extracto de metanólico (MeOH) de las semillas de *Persea americana*. Además, Rodríguez-Carpena, JG. *et al.* (2011) han reportado actividad antioxidante en extracto al 100% de acetato de etilo (EtOAc), extracto en 70% de acetona y en 70% de metanol (MeOH) de la piel, pulpa y semilla de *Persea americana*.

## 2.3 Bases Teóricas

### 2.3.1 Aspectos históricos del origen de la palta

El origen de la palta, de acuerdo a Williams (1977)<sup>23</sup>, se localiza en las partes altas del centro y este de México, y partes altas de Guatemala. Esta misma región está incluida en lo que se conoce como Mesoamérica, y también es considerada como el área donde se llevó a cabo la domesticación del mismo. Existe evidencia directa de la domesticación en el período Clásico Maya del maíz, calabaza, yuca, algodón, aguacate, camote y el ágave, lo cual está sustentado por los restos de la planta en el contexto arqueológico y lingüístico que le dan validez a esta lista de cultivos (Turner and Miksicek, 1984)<sup>24</sup>.

La palta ya estaba plenamente identificada por el hombre desde hace milenios, ya que las evidencias más antiguas del consumo de este fruto fueron encontrados en una cueva en Coxcatlán, región de Tehuacán, Puebla, México, estimado entre los años 8,000-7,000 antes de Cristo (Smith, 1966)<sup>25</sup>. Recientemente, Barrientos (1988)<sup>26</sup>, confirmó que las culturas antiguas también tenían un buen conocimiento acerca de la palta y de sus diversas formas del fruto, como se muestra en el Códice Florentino, donde se mencionan tres tipos de aguacate, que de acuerdo a su descripción; “aoacatl” podría tratarse de *Persea americana* var. *drymifolia* (raza Mexicana), “tlacacolaocatl” a *Persea americana* var. *americana* (Raza Antillana) y “quillaoacatl” a *Persea americana* var. *guatemalensis* (raza Guatemalteca).

### 2.3.2 Razas de paltas (genoma)

Se reconocen tres razas de palta; mexicana, guatemalteca y antillana. La clasificación botánica de estas tres razas ha sido modificada, algunos indican a la raza Mexicana como una especie por separado; *Persea drymifolia* (Kopp, 1966)<sup>27</sup>, otros como Williams (1977), clasificó a la raza guatemalteca como *Persea nubigena* var. *guatemalensis*. Sin

embargo, actualmente se consideran las tres razas dentro de la especie *Persea americana* Mill.

Bergh *et al.* (1989)<sup>28</sup> hicieron una clasificación muy acertada de las razas de aguacate, agrupando a la raza mexicana como la variedad botánica *drymifolia* (*Persea americana* var. *drymifolia*), la raza guatemalteca como var. *guatemalensis* (*Persea americana* var. *guatemalensis*) y a la raza antillana como var. *americana* (*Persea americana* var. *americana*). Por otra parte Bergh *et al.* (1989) concluyeron que las tres razas de aguacate son genéticamente equidistantes. Dicha conclusión fue posteriormente corroborada con análisis de marcadores genéticos de ADN (Tabla 1) mediante la técnica de RAPD (Amplificación al Azar de ADN Genómico) por Bufler, G and Fiedler, J. (1996)<sup>29</sup>.

Recientemente, Ben-Ya'acov *et al.* (1995)<sup>30</sup> señalaron que en Costa Rica no existe aguacate de las razas mexicana y guatemalteca, y que la raza antillana se encuentra en formas comunes en las partes bajas. Sin embargo, existe un tipo endémico del país que se conoce como "aguacate de monte" que es una variante de la especie *Persea americana* muy primitiva, y sugiere que se la considere como variedad botánica aparte y se propone como var. *costaricensis*. La afirmación de dicho autor se basa también en los análisis de 5S ADNr (secuencias de ADN ribosomal) que separan a estos tipos de aguacate de la raza antillana y guatemalteca, que son los más parecidos y además mediante RAPD también son equidistantes genéticamente con las otras tres razas de aguacate, Tabla 1. (Bufler y Fiedler, 1996). La raza mexicana tiene como principal ventaja la resistencia al frío, así como su alto contenido de aceite. Otra característica distintiva es el aroma al anís en las hojas de casi todos los individuos. La raza guatemalteca presenta piel bastante gruesa si se compara con las otras tres razas, que le permite resistencia del fruto al transporte, sin embargo, como está formada por tejidos esclerificados son bastante duros y no

permite saber con el tacto si los frutos ya están en madurez de consumo. Otra característica favorable es el tamaño pequeño y forma redonda de la semilla en varios individuos de esta raza.

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

**Tabla 1. Porcentaje de parentesco (similitud) dentro y entre razas de aguacate y *Persea schiedeana* (“Hib”).**

	<b>Raza Mexicana</b>	<b>Raza Antillana</b>	<b>Raza Guatemalteca</b>	<b>Costaricensis? <i>Persea</i></b>	<b><i>Persea schiedeana</i></b>
<b>Raza Mexicana</b>	75.4+/-5.6	52.7+/-4.1	57.5+/-4.6	58.6+/-2.3	27.0+/-1.6
<b>Raza Antillana</b>		71.1+/-5.2	58.1+/-5.4	58.4+/-3.2	22.8+/-0.8
<b>Raza Guatemalteca</b>			73.2+/-6.0	59.2+/-4.7	24.3+/-2.1
<b>¿Raza Costaricensis?</b>					27.0
<b><i>Persea schiedeana</i></b>					

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

Fuente: Barrientos-Priego y Col. Historia y Genética del aguacate, 1998 <sup>26</sup>.

### 2.3.3 ***Etimología del nombre común, nombre científico de la palta y Descripción de la variedad Hass fuerte***

La palabra **aguacate** proviene del náhuatl (*ahuácatl*), que está referido a la forma del fruto “forma de testículos”. De otro lado, la palabra **guacamole**, proviene del náhuatl *ahuacamolli*, que traducido significa salsa de aguacate. También es conocida como aguaco o ahuaca. Los españoles emplearon derivados como aguacata y avocado para referirse a *Persea americana*. Los países lusófonos utilizan la palabra **abacate** para referirse a *Persea americana*.

La palabra **palta** es de origen quechua, su uso tiene referencia documental en la obra “Comentarios reales de los incas” de Garcilaso de la Vega publicada en 1605, en referencia a la etnia los paltas, quienes habitaron la actual provincia de Loja (Ecuador). Dicha etnia fue conquistada por el inca Túpac Yupanqui entre 1450 y 1475. Actualmente, se conoce frecuentemente como palta a *Persea americana* en los países de Perú, Bolivia, Chile, Argentina y Uruguay.

#### ***Taxonomía y nombre científico de la Palta.***

DIVISIÓN: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUBCLASE: MAGNOLIIDAE

ORDEN: LAURALES

FAMILIA: LAURACEAE

GÉNERO: *Persea*

ESPECIE: ***Persea americana*** Miller

NOMBRE VULGAR: “palta fuerte”

Determinación realizada por la Dra. Haydee Montoya, Herbario del Museo de historia natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (Anexo 3)

***Descripción de la palta Persea americana Miller Var. Hass Fuerte.***

Esta palta de color verde, proviene de la yema sacada de un árbol nativo de Atlixo (México) y tiene características intermedias entre la raza mexicana y guatemalteca, por lo que se considera un híbrido natural de estas dos razas. Los frutos presentan aspecto piriforme, de tamaño medio (180 a 400 g.). Su largo medio es de 10 a 12 cm. y su ancho de 6 a 7 cm. La piel, ligeramente áspera, se separa con facilidad de la carne, variando su contenido de aceite entre 18 y 22 %. En 1935 Rudolph Hass, patentó en California EE.UU. La variedad “Hass”, árbol híbrido natural encontrado en su plantación, se caracteriza por la ausencia de fibra en la pulpa y su buena preservación en el almacenamiento. Debido a esta característica se le denominó “Fuerte” (Rojas y Col., 2004)<sup>31</sup>

**Tabla 2. Características físicas promedio para la variedad fuerte en Colombia**

VARIEDAD	LONGITUD (mm)	DIÁMETRO (mm)	RELACIÓN (L/D)	FORMA	PESO (g)	PIEL (mm)
FUERTE	119,5	76,2	1,6	Piriforme	334,1	0,8

Fuente: Rojas y Col., Caracterización de los productos hortofrutícolas colombianos 2004<sup>31</sup>.

**2.3.4 Descripción morfológica y Ecogeográfica de la palta**

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

Es un árbol de hasta 20 m. de alto. Las plantas injertadas sin embargo son mucho más pequeñas. El tronco es corto de corteza parda y más o menos rugosa. La copa de árbol es muy frondosa. Las hojas son perennes y de inserción alterna mediante un peciolo de 2 a 5 cm, el haz de color verde intenso y lustroso y de color verde mate y glauco en el envés, donde se destaca la nervadura central. Las hojas son coriáceas, enteras, de borde liso, oblongas (cuando están maduras) o elíptico lanceolada y de color pardo (cuando son tiernas), el limbo mide de 8 a 20 cm de longitud (Mostacero y col., 2011)<sup>32</sup>

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

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

### ***Descripción ecogeográfica***

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

***Temperatura.*** En lo que respecta a la temperatura, las variedades tienen un comportamiento diferente de acuerdo con la raza. La raza antillana es poco resistente al frío mientras que las variedades de la



raza guatemalteca son más resistentes y las mexicanas, las que presentan mayor tolerancia al frío.

**Requerimiento hídrico y radiación solar.** En cuanto a precipitación pluvial, se considera que 1200 milímetros anuales bien distribuidos son suficientes. Sequías prolongadas provocan la caída de las hojas, que reduce el rendimiento; el exceso de precipitación durante la floración y fructificación, reduce la producción y provoca caída del fruto. El factor precipitación condiciona las horas luz, por ello, es importante que la zona donde se vaya a establecer el cultivo tenga por lo menos un promedio de 1.500 horas luz/año. <sup>33,34</sup>

Actualmente existen variedades hortícolas adaptadas a una amplia diversidad de suelos y climas. En el Perú, se cultiva en las tres regiones naturales (costa, sierra y selva) y hasta los 2500 metros sobre el nivel del mar, sobre todo en zonas húmedas tropicales y subtropicales; así como en los valles interandinos de los departamentos de Junín, Ayacucho, Arequipa, Cajamarca, La Libertad y Ancash. (Mostacero y col., 2011)

**Características climáticas.** Biotipo característico de las comunidades antropocénicas del país.

**Características fitogeográficas.** Biotipo característico de las comunidades antropocénicas del país.

**Sistematización fitogeográfica.** Biotipo característico de las comunidades antropocénicas del país.

**Características fenológicas.** Época de floración: todo el año; época de fructificación: todo el año; Formas de propagación: semillas e injertos. Por lo señalado, anteriormente, uno de los principales factores que afectan la producción y calidad de la fruta, sobre todo en condiciones de suelo desfavorables para el desarrollo del palto, es la inadecuada relación entre agua y aire en la zona de la rizósfera, producto del manejo del riego. El exceso o falta de agua durante el crecimiento del palto, limita la producción y la calidad de la fruta. (Whiley *et al.*, 1988)<sup>35</sup>

### **2.3.5 Producción y exportación de palta**

#### ***Nivel de producción.***

La palta es una fruta muy cotizada a nivel internacional por su sabor y características nutricionales. Actualmente se cultiva en 59 países en regiones tropicales y sub-tropicales (Bernal, 2008)<sup>36</sup>. México ocupa el primer lugar en plantaciones comerciales con 49% y en los últimos años Colombia incrementó rápidamente el área sembrada hasta ubicarse en segundo lugar con 13%, seguido por Chile (10%) y Estados Unidos (7%); otros países productores son Sudáfrica, Israel, Perú, Australia, España y Kenia, los cuales suman 21% (Ferreira y col., 2006).

En Colombia, se siembra aguacate desde el nivel del mar hasta los 2500 msnm, principalmente para el mercado local. La producción se caracteriza por la siembra de árboles nativos principalmente. El aumento del consumo *per cápita* interno y su potencial exportador como fruta fresca y procesada, condujo al incremento de la siembra de variedades mejoradas aptas para diferentes climas, destacándose la variedad Hass para clima frío moderado. La mayor área sembrada de esta variedad se encuentra en el departamento de Antioquia con 2300 has. y con proyección de 10 000 has al 2015 (Guerrero T. y col, 2011)<sup>37</sup> y (Mejía, A., 2010)<sup>38</sup>.

#### ***Volumen de Exportación.***

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

plantaciones mundiales. Tan sólo en México, se produce en 28 entidades federativas, siendo Michoacán la más importante de ellas, con 85.9% de la producción total del año 2009.

Por su parte, entre los principales países exportadores de palta se encuentra México, con el 51.4% del mercado, le siguen en menor medida Israel (11,6%), Perú (9,4%) y Sudáfrica (8,0%). El 2010, los principales países importadores de aguacate fueron Estados Unidos (47,1%), Francia (12,8%), Japón (6,1%) y Canadá (4,9%), los cuales concentran 70,8% de la importación total (Noriega, 2013)<sup>39</sup>.

Los principales abastecedores de Europa son Israel, Chile, Perú y Sudáfrica. México exporta a 21 países, principalmente Estados Unidos, Japón, Canadá, América Central y Europa (Noriega, 2013)<sup>39</sup>.

### **2.3.6 Composición química y usos del fruto**

#### ***Composición química de la pulpa del fruto.***

Bergh (1992)<sup>40</sup> asevera que el mesocarpo de la palta contiene alta proporción de ácidos grasos monoinsaturados, baja cantidad de ácidos grasos saturados y casi cero colesterol, y rico en vitamina E, vitamina B<sub>6</sub>, ácido ascórbico,  $\beta$ -caroteno magnesio y potasio. Asimismo, Ozdemir, F. and Topuz A. (2004)<sup>41</sup> determinaron que los ácidos grasos insaturados están constituidos por el monoinsaturado (oleico) en un 72%, encontrándose los ácidos poliinsaturados entre 11 y 15%; mientras los ácidos grasos saturados varían entre un 10 al 19 por ciento, dependiendo de la variedad y el estado de madurez del fruto; comparable al aceite de girasol, de maíz, de oliva, de soya y de maní<sup>42</sup>. Además de los componentes encontrados por Bergh. (Bergh, 1992).

Mostacero y col. (2011) refieren que la pulpa del fruto contiene, además de las sustancias mencionadas, tiamina, ácido acético, ácido málico, almidón, glucosa, proteína, taninos, fitosteroles y hierro.

El análisis centesimal reportado por Acosta, M. (2011)<sup>43</sup>, para la pulpa de palta en Colombia se presenta en siguiente cuadro:

**Tabla 3. Composición química aproximada de la pulpa de palta**

Parte comestible	60%
Calorías	127
Agua	79,7
Proteína	1,6 g
Grasa	13,3 g
Carbohidratos	3,0 g
Fibra	1,6 g
Cenizas	0,8 g
Calcio	10 mg
Fósforo	40 mg
Hierro	0,4 mg

Fuente: Acosta, M. Evaluación y escalamiento del proceso de extracción de aceite de aguacate 2011.

### ***Usos de la pulpa del fruto.***

El fruto de la palta tiene un alto contenido de grasa, proteína, fibra y vitaminas (A, C y E); el nivel de azúcar es relativamente bajo; es una excelente fuente de potasio y fósforo y contiene ácidos grasos insaturados que reducen de manera efectiva el nivel de colesterol en la sangre, ayudando en la prevención de enfermedades coronarias. El aceite de aguacate presenta un nivel de digestibilidad de 93,8% y es rico en vitamina A, B, C y E. Está compuesto por ácido palmítico (7%), esteárico (1%), oleico (79%) y linolénico (13%) (Morton, 1987)<sup>44</sup>.

Las grasas son el principal componente de la palta después del agua, su valor calórico es elevado con respecto a otras frutas, se caracteriza por el contenido de ácidos grasos insaturados siendo mayoritariamente monoinsaturada (72% ácido oleico) que reducen la concentración del

colesterol total en la sangre. Es rico en vitamina E, ácido ascórbico, vitamina B<sub>6</sub>, caroteno, potasio y magnesio. Es un fruto valioso para la obtención de productos alimenticios, farmacéuticos, grasas, colorantes, fibra, proteínas, minerales, por su alto contenido de vitaminas A y B y ciertas vitaminas liposolubles poco frecuentes en otros frutos <sup>45,46</sup>.

### ***Aceite de pulpa de palta.***

El aceite es el componente más importante de la pulpa de la palta, que alcanza niveles hasta del 25%, dependiendo de la variedad y la madurez, al cual se le atribuyen propiedades benéficas para la salud. Este aceite, tradicionalmente venía siendo utilizado para fines cosméticos, aunque en años recientes se ha incrementado tanto la producción como la demanda de aceite tipo extra virgen para usos culinarios en la cocina gourmet, con gran potencial debido a sus cualidades que lo convierten en sustituto del aceite de oliva.

Existen diferentes tecnologías utilizadas para la obtención del aceite de palta, algunas de ellas son: extracción por prensado en frío, aplicada comúnmente para la extracción de aceites de semillas ricas en aceite (presenta un rendimiento entre un 10 y 12% del total del contenido graso para la variedad Hass) y la extracción por enzimas hidrolíticas, que permite recuperar hasta 80% del total del contenido graso (Acosta, M., 2011)<sup>47</sup>

Actualmente, se han explorado y experimentado diversos métodos de extracción del aceite con fines culinarios, planteándose alcanzar altos rendimientos, sin trazas de contaminantes en el producto y conservando las propiedades de los ácidos grasos insaturados, de otros nutrientes y los metabolitos secundarios; así como llegar a ser amigables con el medio ambiente. Dentro de ellas se destaca la extracción por fluidos supercríticos, que ya viene siendo utilizada en la industria del café y la extracción de aceites esenciales. Este método

presenta una elevada rapidez, y recuperación y calidad del aceite extraído. (Martínez, J., 2008)<sup>48</sup>

Recientemente, Restrepo y col. (2012)<sup>49</sup> han comprobado que la extracción por fluidos supercríticos es la técnica más adecuada para la producción de aceite de palta, que permitió alcanzar el máximo rendimiento (18,9%), el menor índice de acidez (0,48%), baja oxidación de los ácidos grasos insaturados (16,87 meq O<sub>2</sub>/kg) y mayor índice de yodo (80,18 cg I<sub>2</sub>/g).

**Tabla 4. Pruebas de calidad del aceite de aguacate extraído por diferentes métodos.**

Indicador de calidad	Método de extracción		Límite permisivo (aceite extra virgen)
	Sohxlet	Fluidos supercríticos	
Índice de iodo (cg I <sub>2</sub> /g)	77,85± 2,1	90,18±0,78	85-90
Índice de peróxido (meq O <sub>2</sub> /kg)	31,66±2,47	16,87±1,15	Max. 10
Índice de acidez (% ácido oleico)	1,68±0,14	0,48±0,35	Max.1,5
Índice de saponificación (mg KOH/g)	175,07±2,98	226,18±1,11	177-198
Gravedad específica g/mL	0,874±0,05	0,915±0,04	0,910-0,920

Fuente: Restrepo y col. Comparación del aceite de aguacate variedad Hass cultivado en Colombia, obtenido mediante fluidos supercríticos. 2012<sup>49</sup>.

### **2.3.7 Composición química y usos de la semilla**

#### ***Composición química de la semilla.***

Una vez separada la pulpa comestible del fruto, quedan como residuos la cáscara y la semilla. Dependiendo de las variedades esta única semilla alcanza entre 15 a 18% del peso total del fruto tipo baya. El epispermo de la semilla es una fina capa fibrosa de color marrón oscuro. La semilla posee menor porcentaje de lípidos que la pulpa por lo cual no se considera de interés para el proceso de obtención de aceite a nivel industrial. Sin embargo, algunos estudios han revelado que el aceite de semilla presenta mayor cantidad de ácidos grasos poliinsaturados que el aceite de pulpa. Además, de la semilla es posible obtener enzimas y sustancias con propiedades antibióticas. Estas últimas tendrían posibles usos en la conservación de la carne, en productos medicinales y productos cosméticos. Es posible también extraer taninos y pigmentos de la semilla<sup>50-52</sup>

Gonzales y col. (2010)<sup>51</sup> sostienen que la semilla de aguacate posee algunas sustancias químicas (principios biológicamente activos) antinutricionales como el ácido cianhídrico, glucósidos cianogénicos, polifenoles condensados y algunos taninos, que podrían actuar adversamente sobre la posibilidad de su utilización como aceite comestible de consumo humano. Sin embargo, la mayoría de dichas sustancias son termolábiles, por lo que un tratamiento térmico adecuado (cocción) las destruiría.

#### ***Usos tradicionales de la semilla.***

Según el tratado sobre plantas medicinales del Perú de Mostacero y col. (2011), el epispermo de la semilla de palta se toma en infusión acuosa por tres días para expulsar parásitos nematodos; los mismos autores refieren que la semilla se utiliza como tónico capilar en la caída del cabello, siendo también muy eficaz en enterocolitis diarreicas; finalmente, refieren que existen estudios que demuestran las

propiedades antimicrobianas del extracto acuoso de la semilla contra bacterias Gram positivas y negativas, hongos y micobacterias. Gonzales y col. (2010)<sup>51</sup> refieren que en años recientes los laboratorios cosméticos han empezado a interesarse en el aceite de palta por su elevado contenido insaponificable, por sus propiedades hidratantes, reestructurantes y antioxidantes y por su especial capacidad de aumentar la síntesis de colágeno; posee además importantes cualidades de “penetración” y “mantenimiento”, lo que le hace eficaz como vehículo en cremas nutritivas.

### **2.3.8 Antioxidantes naturales**

#### ***El proceso oxidativo.***

Un antioxidante es una molécula capaz de retardar o prevenir la oxidación de otras moléculas. La oxidación es una reacción química de transferencia de electrones de una sustancia a un agente oxidante. Las reacciones de oxidación pueden producir radicales libres que provocan las reacciones en cadena que dañan las células. Los antioxidantes bloquean estas reacciones mediante la eliminación de los intermedios del radical libre e inhiben otras reacciones de oxidación, oxidándose ellos mismos.

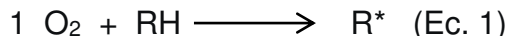
La autooxidación es la reacción directa del oxígeno molecular con compuestos orgánicos, bajo determinadas condiciones. El mecanismo de oxidación de los lípidos sigue las siguientes etapas:

***Iniciación.*** El oxígeno existe en dos estados, el estado más estable es el triplete ( $3 O_2$ ), el cual tiene dos electrones sin aparear con el mismo sentido de espín; y el oxígeno singlete ( $1 O_2$ ), que es un estado más excitado y reactivo, con los electrones sin aparear y con sentidos opuestos de espín.

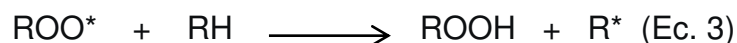
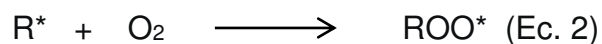
Las moléculas de oxígeno en estado singlete oxidan directamente al grupo CH del ácido graso insaturado (RH) a la vez que desplazan en doble enlace y forman el radical alquilo ( $R^*$ ). La velocidad de reacción de iniciación es lenta. El oxígeno en estado fundamental (triplete), no



puede llevar a cabo esta reacción, sin embargo por efecto de la radiación (luz), se puede transformar en singlete



**Propagación.** Los radicales alquilo ( $\text{R}^*$ ) formados en el paso de iniciación son reactivos con el oxígeno disponible, formando radicales peroxi ( $\text{ROO}^*$ ) a una velocidad de reacción alta (Ec. 2). El radical peroxi desaparece a una velocidad lenta formando un hidroperóxido ( $\text{ROOH}$ ), y un nuevo radical libre puede propagar la reacción en cadena (Ec. 3).



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

**Terminación.** Cuando los ácidos grasos poliinsaturados ( $\text{RH}$ ) son consumidos los radicales libres tienden a dimerizarse y la reacción en cadena termina. La terminación completa un ciclo de autoxidación lipídica. La producción en exceso de especies de radicales de oxígeno, particularmente radicales hidroxilo, pueden afectar las membranas de las células lipídicas al producir peróxidos y especies de oxígeno reactivo, este daño celular está relacionado con algunas enfermedades crónico-degenerativas, asociadas con el estrés oxidativo como son: el cáncer, las enfermedades coronarias, artritis reumatoide, diabetes, gota, Alzheimer, entre otras.<sup>1,53,54</sup>

#### **Los antioxidantes naturales.**

Los antioxidantes juegan un rol muy importante en el sistema de defensa del cuerpo humano, porque protegen contra el daño causado por las especies reactivas de oxígeno (ROS), bioproductos dañinos, generados durante la respiración de las células aeróbicas que pueden oxidar biomoléculas, hasta llegar a la muerte de la célula y causar daño tisular (Berliner and Heinecke, 1996).

Los antioxidantes naturales son sustancias capaces de prevenir o inhibir el proceso de oxidación en el cuerpo humano, así como en los productos alimenticios. Se encuentran en casi todas las partes de las plantas, ya que las protegen contra lesiones de sus tejidos, oxidándose y combinándose con otros componentes; también es un mecanismo de protección de agresiones por parte de los animales herbívoros. Los polifenoles son el grupo más numeroso de componentes antioxidantes y están presentes en frutas y vegetales, semillas de leguminosas, granos, té, hierbas, especias y vinos.<sup>55,56</sup>

Los antioxidantes de las fuentes naturales son los preferidos por los consumidores debido a la actual preocupación por los efectos tóxicos y carcinogénicos presentes en los antioxidantes de fuentes sintéticas (Kranl *et al.*, 2005)<sup>57</sup>. Los antioxidantes más comunes que se encuentran en los vegetales son las vitaminas C y E, carotenoides, flavonoides y compuestos fenólicos. El ácido ascórbico y los compuestos fenólicos son referentes conocidos de los antioxidantes hidrofílicos, mientras que los carotenoides y vitamina E son referentes conocidos de los antioxidantes lipofílicos (Gutteridge; Halliwell, 2000)

#### ***Determinación de la actividad antioxidante.***

Uno de los principales factores que afectan la actividad de los antioxidantes que capturan los radicales libres está relacionado con su comportamiento frente al agua y a los lípidos: por ejemplo, los antioxidantes hidrofílicos son a menudo menos eficaces en emulsiones de aceite-agua que los antioxidantes liposolubles, mientras que los antioxidantes liposolubles son menos eficaces en los sistemas cuyo componente principal es hidrofílico.<sup>58</sup>

Las diferencias en la eficacia de los antioxidantes en aceites y emulsiones se deben a su ubicación física en los dos sistemas. Los antioxidantes polares son más eficaces en la mayor parte de aceites, ya que pueden acumularse en la interfase aire-aceite. En cambio los

antioxidantes no polares son más eficaces en las emulsiones, ya que se mantienen en las gotitas de aceite y pueden acumularse en la interfase aceite-agua. Los hidroperóxidos se producen en la superficie de interacción aceite/agua. Los agentes pro-oxidantes (como metales de transición) se producen en la fase acuosa (Brand-Williams W. *et al.*, 1995).

Se han desarrollado muchos métodos *in vitro* para medir la actividad antioxidante. Algunos de ellos no se correlacionan con la capacidad de inhibir el deterioro oxidativo de los alimentos, debido a que la actividad de los sistemas antioxidantes en los alimentos, no depende sólo de la reactividad química de los antioxidantes, sino también de factores como ubicación física, interacción con otros componentes de los alimentos e incluso condiciones ambientales.

La actividad antioxidante, como método, aceptado y recomendado por la AOAC<sup>59</sup>, utiliza el  $\alpha,\alpha$ -difeníl- $\beta$ -picrilhidrazilo (DPPH).

## 2.4 Marco Conceptual

En el presente trabajo se han operacionalizado los siguientes conceptos:

1. **Epispermo.** Capa que rodea a la semilla. En el epispermo se observan comúnmente dos capas, la externa, la testa, derivada del tegumento externo y la interna, el tegmen, derivado del tegumento interno del óvulo. Su función es proteger a la semilla del medio ambiente. Algunas semillas forman proyecciones de la testa que favorecen la absorción de agua en el momento de la germinación o que actúan como protección suplementaria.
2. **Cotiledones.** Hojas primordiales o embrionarias de las plantas con flores (fanerógamas-angiospermas), cuya función es la reserva de nutrientes para la plántula durante la germinación de la semilla. Las monocotiledóneas presentan sólo una hoja, en cambio las dicotiledóneas tienen dos hojas primordiales (cotiledones).
3. **Aceite de semilla de palta.** Lípido, líquido a temperatura ambiente, extraído de la semilla de la palta. El aceite puede extraer por arrastre de

vapor, horno de microondas, expresión en frío, arrastre de fluidos supercríticos (CO<sub>2</sub>). Dícese aceite “extra virgen” al que se obtiene por expresión en frío de la semilla, empleándose para tal fin prensas de madera u otro material diatérmico.

4. **Triacilglicéridos (Triacilgliceroles).** Moléculas compuestas por una molécula de propano triol (Glicerol) asociada mediante enlaces éster a tres moléculas de ácidos grasos (ácidos carboxílicos de 8 a 24 carbonos saturados o insaturados). Son los lípidos de mayor importancia nutricional.
5. **Ácidos grasos insaturados.** Ácidos grasos con uno o más enlaces dobles presentes en los triglicéridos líquidos a temperatura ambiente (aceites). Son de origen tanto animal como vegetal. Los ácidos grasos monoinsaturados se encuentran principalmente en aceites vegetales (en proporciones variables de mayor a menor en: aceite de oliva, ajonjolí, soya, girasol y algodón) y en la palta. Estos ácidos monoinsaturados disminuyen la oxidación de colesterol LDL y cuando reemplazan a los ácidos grasos saturados disminuyen el colesterol LDL sin mayor cambio en el colesterol HDL. Los ácidos grasos poliinsaturados de las series omega 3 y omega 6 son considerados esenciales desde el punto de vista nutricional.
6. **Ácidos grasos esenciales.** Son aquellos ácidos grasos poliinsaturados que el ser humano no puede biosintetizar debido a la carencia de sistemas enzimáticos específicos. Comprende a: los ácidos grasos omega 6 (aceite de maíz), cuya ingesta del 5 al 10% de calorías, disminuyen el riesgo cardiovascular; y los ácidos grasos omega 3, que disminuyen los niveles de triglicéridos, mediante el bloqueo de la incorporación de triglicéridos a las lipoproteínas VLDL (lipoproteínas de muy baja densidad) a nivel de los hepatocitos.
7. **Ésteres de colesterilo.** Moléculas del núcleo esteroidal, cuyos grupos funcionales C<sub>3</sub>-OH (hidroxilo del carbono-3 del núcleo A) se encuentran esterificados a ácidos carboxílicos, usualmente ácidos grasos saturados de bajo peso molecular. Estas moléculas muestran mayor hidrofiliidad que

los núcleos esteroideos libres y se encuentran frecuentemente en las células y tejidos vegetales.

- 8. Fitosteroles.** Son esteroides (con función hidroxilo –alcohol- en el carbono 3 del núcleo ciclopentano perhidro fenantreno) de origen vegetal, presentes en pequeñas cantidades en algunos alimentos como el aceite de girasol y la soja. Son similares al colesterol animal. Son moléculas orgánicas que forman parte de la membrana de las células vegetales, con función similar a la del colesterol en las membranas celulares animales. Se han identificado: beta sitosterol, campesterol y estigmasterol en el aceite de semilla de palta, los cuales al ser ingeridos con los alimentos disminuye la absorción del colesterol.
- 9. Antinutrientes.** Son compuestos naturales o sintéticos que interfieren con la absorción de nutrientes, estudios en el ámbito nutricional, hallaron estos compuestos antinutricionales en alimentos y bebidas, tanto naturales como procesados e, incluso, en medicamentos.
- 10. Actividad antioxidante.** Son sustancias que cuando están presentes en los alimentos o en el organismo a concentraciones bajas comparadas con las de un sustrato oxidable, retardan o previenen la oxidación de dicho sustrato. Los antioxidantes han sido utilizados para prevenir el deterioro de la calidad de los productos y mantener su valor nutricional.

## **CAPÍTULO III**

### **DISEÑO METODOLÓGICO**

#### **3.1 Tipo y Diseño de Investigación**

##### **3.1.1 Tipo de investigación**

La presente investigación fue de tipo básica, experimental y de nivel descriptivo (Sánchez H, Reyes C., 2009)<sup>60</sup>.

##### **3.1.2 Método y diseño de la investigación**

Se empleó el método observacional con diseño descriptivo transversal (Hernández R, Fernández C, Baptista P, 2006)<sup>61</sup>

#### **3.2 Unidad de análisis**

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

#### **3.3 Población de estudio**

Frutos maduros de *Persea americana* Mill. Var. Hass fuerte recolectados de las plantaciones de la localidad de Pariahuanca, distrito de Pariahuanca, provincia de Huancayo y Región Junín. Ubicada a 2070 m.s.n.m. 100 kilogramos de los frutos maduros, exentos de enfermedades y libres de golpes fueron transportados al laboratorio de Bromatología de la Universidad Nacional del Centro del Perú.

### **3.4 Tamaño de muestra**

Semillas aisladas en el laboratorio de Bromatología de la UNCP de 100 kilogramos de *Persea americana* Mill. Var. Hass fuerte.

### **3.5 Selección de la muestra**

Semillas saludables bajo los criterios de inclusión:

#### **3.5.1 Criterios de inclusión**

- Semillas aisladas de la muestra de frutos de *Persea americana* Mill. Var. Hass fuerte procedente de los 100 kilogramos recolectados en la localidad de Pariahuanca.
- Semillas saludables, libres de daños por larvas, bacterias, microorganismos o traumas mecánicos.

#### **3.5.2 Criterios de exclusión**

- Semillas aisladas procedentes de otra recolección de frutos de *Persea americana* Mill. Var. Hass fuerte.
- Semillas aisladas procedentes de los frutos de otras variedades de *Persea americana*.

### **3.6 Técnicas de recolección de datos**

#### **3.6.1 Caracterización morfológica de los frutos de *Persea americana* Mill. Var. Hass fuerte**

Los frutos recolectados del distrito de Pariahuanca, se trasladaron al laboratorio de Bromatología de la UNCP y se dejaron madurar, envueltos en papel kraft, por 5 días a temperatura de 10 °C. Posteriormente, se tomó medidas del tamaño y peso del fruto. Así como, el peso de la semilla a fin de calcular el peso promedio de la semilla y el porcentaje del peso de la semilla respecto al peso del fruto.

### 3.6.2 **Obtención de la harina de semilla de *Persea americana* Mill. Var. *Hass fuerte***

Una vez desecadas las semillas, se desecha el epispermo y se procede a la obtención de la harina, mediante molienda manual en mortero, de los cotiledones deshidratados. La harina de los cotiledones de la semilla de palta fue caracterizada sobre el tamaño de partículas.

### 3.6.3 **Análisis químico proximal de la harina de semilla de *Persea americana* Mill. Var. *Hass fuerte***

La humedad, proteína, extracto etéreo, cenizas y contenido de fibra cruda en ASF se determinaron por triplicado siguiendo los métodos estándar de la Asociación de Químicos Analíticos Oficiales (AOAC), y el contenido total de carbohidratos se calculó como la diferencia a un total de 100%. La fibra dietética también se determinó por triplicado utilizando métodos de la AOAC 997.08 y 999.03.

### 3.6.4 **Obtención del aceite de semilla de *Persea americana* Mill. Var. *Hass fuerte***

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

**Extracción:** Se realizó utilizando el sistema Soxhlet (caracterización). Los residuos fueron caracterizados en extraíbles totales mediante Soxhlet. Las distintas extracciones del diseño de experimentos (proceso), se llevaron a cabo con una agitación constante a 140 rpm y transcurrido el tiempo de extracción en ambos casos se evaporó el disolvente del extracto en el equipo rotavapor. El contenido en extraíbles (b. S.) se calculó como aumento porcentual de peso por cantidad de muestra seca.

$$\text{Extraíbles} = \frac{M_3 - M_2}{M_1}$$

Donde:  $M_1$  = masa inicial de muestra (b.s.);



$M_2$  = masa del balón tarado;

$M_3$  = masa del balón más el extracto.

### **3.6.5 *Análisis fisicoquímico del aceite de semilla de Persea americana Mill. Var. Hass fuerte***

***Análisis fisicoquímico realizado a las muestras antes del proceso de extracción aceite por el método de Soxhlet.*** Antes de iniciarse los diversos análisis a las muestras de palta se determinó el pH, temperatura (°C), grados Brix (°Brix) e índice de refracción. Estos indicadores permitieron identificar el grado de madurez del fruto.

***Análisis fisicoquímico del aceite de semilla de palta.*** A la muestra de aceite purificada se le efectuaron los diversos análisis fisicoquímicos que permitieron caracterizar el aceite. Estos análisis fueron: índices de acidez, peróxidos, saponificación, iodo, refracción, viscosidad, gravedad específica, cenizas y humedad.

### **3.6.6 *Análisis fitoquímico del extracto etanólico de aceite de semilla de Persea americana Mill. Var. Hass fuerte***

Se realizó un análisis preliminar cualitativo fitoquímico del extracto etanólico del aceite de semilla de palta. Este análisis fue desarrollado en el laboratorio del Centro de control analítico de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de San Marcos.

### **3.6.7 *Análisis del perfil de ácidos grasos del aceite de semilla de Persea americana Mill. Var. Hass fuerte***

Mediante la técnica de cromatografía de gases se ha analizado la muestra de aceite de semilla de palta en el laboratorio de Bromatología de la UNCP de Huancayo. En este análisis de ácidos grasos se determinó la concentración tanto de ácidos grasos saturados como insaturados.

### **3.6.8 Prueba de estabilidad del aceite de semilla de *Persea americana* Mill. Var. Hass fuerte**

***Evaluación de la estabilidad del aceite de semilla de palta mediante el Índice de acidez (% Ácido oleico).*** Permite evaluar el deterioro oxidativo del aceite, midiendo el cambio del contenido de un ácido graso insaturado, en este caso se consideró el ácido oleico. La evaluación se realizó durante un horizonte de 56 días. Se expresa en porcentaje (%).

***Evaluación de la estabilidad del aceite de semilla de palta mediante el Índice de peróxido (meq O<sub>2</sub>/kg).*** Es el método químico más frecuente para evaluar el deterioro oxidativo de los aceites. La formación de peróxidos se acompaña del enranciamiento del aceite. La evaluación se realizó durante un horizonte de 56 días. Se expresa en meq/kg.

### **3.6.9 Evaluación de la actividad antioxidante del aceite de semilla de *Persea americana* Mill. Var. Hass fuerte y de las fracciones saponificables e insaponificables.** Se utilizó el método de la captación de radicales para medir la actividad antioxidante del aceite, así como de sus fracciones tanto saponificables como insaponificables, por separación de las fracciones lipofílica e hidrofílica de las sustancias antioxidantes separadas por la mezcla de solventes hexano:metanol.

***Evaluación de la actividad antioxidante del aceite de semilla en función a la captación del radical DPPH.*** Se utilizó el radical  $\alpha$ ,  $\alpha$ -difeníl- $\beta$ -picrilhidrazilo, el cual tiene un comportamiento hidrofílico. La actividad antioxidante del aceite de semilla se mide en  $\mu\text{mol}$  de Trolox Equivalentes/kg. Esta prueba se desarrolló en el laboratorio de Bromatología de la UNCP de Huancayo.

***Evaluación de la actividad antioxidante del aceite de semilla en función a la captación del radical ABTS.*** Se utilizó el radical catiónico ABTS (2,2' Azinobis (3 etilbenzotiazolina-ácido sulfónico) el cual tiene un comportamiento lipofílico. La actividad antioxidante del aceite de semilla se mide en  $\mu\text{mol}$  de Trolox Equivalentes/kg. Esta

prueba se desarrolló en el laboratorio de Biotecnología de la Universidad Agraria de la Molina en Lima.

### 3.7 Análisis e interpretación de la información

#### 3.7.1 *Análisis de datos*

Para el procesamiento de datos se empleó un diseño factorial de experimentos  $2^3$  con repetición en el punto central con el objeto de optimizar variables de extracción que proporcionan los valores máximos en rendimiento de extraíbles, polifenoles, y poder antioxidante en los extractos de los distintos residuos.

Las variables consideradas Serán: tiempo de extracción (t), que varió entre 25 a 60 minutos, Temperatura (T °C), con valores entre 25 y 60 °C, y relación líquido/sólido (l/s) varió entre 1 y 10 para muestras de fracciones saponificable y insaponificable del aceite de semilla de palta. Las variables independientes son t, T y S/L. La función Respuesta, elegidas para optimizar serán: Concentración de fenoles totales (b.s.), poder antioxidante de las muestras.

#### 3.7.2 *Técnicas de recolección de datos (técnicas descriptivas, estadística inferencial)*

**Diseño factorial:** Se empleará un diseño factorial de experimentos  $2^3$  con repetición en el punto central (Box y col., 1989) con el objeto de optimizar variables de extracción que proporcionan los valores máximos en rendimiento de extraíbles, polifenoles, y poder antioxidante en los extractos de los distintos residuos. Donde se incluyen sólo aquellos efectos que resultan significativos a un nivel de confianza de 95%.

#### *Esquema del Diseño Experimental (Prueba de Hipótesis)*

Experimento	T	T	L/s
1	30	25	5
2	30	50	5

3	30	25	1
4	30	50	1
5	90	25	5
6	90	50	5
7	90	25	1
8	90	50	1
9	60	37,5	3
10	60	37,5	3
11	60	37,5	3
12	60	37,5	3

### ***Procesamiento de los datos***

El procesamiento de datos se desarrollará en base al programa estadístico STATGRAPHICS Plus 5.0 y el programa STATISTICAL 6,0 para evaluar y validar los resultados obtenidos a nivel experimental. Asimismo se usó el programa SPSS 20,0 para el procesamiento estadístico descriptivo y bivariable y el programa EXCEL 2013 para la presentación de los resultados.

### ***Procedimiento a seguir para probar las hipótesis***

#### ***Prueba de hipótesis***

$H_0 = H_0$  = Que todos los tratamientos no tienen diferencia significativa.

$H_a$  = Al menos uno de los tratamientos es diferente a los demás

$\alpha$  : Nivel de significancia = 5%

## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS

#### 4.1 Caracterización morfológica de los frutos de *Persea americana* Mill. var. Hass fuerte

Los frutos recolectados de Pariahuanca, se trasladaron al laboratorio de Bromatología de la UNCP y se dejaron madurar, envueltos en papel kraft por 5 días a una temperatura de 10 °C. Posteriormente se procedió a tomar medidas del tamaño y peso del fruto. Así como, el peso de la semilla afín de calcular el peso promedio de la semilla y el porcentaje del peso de la semilla respecto al peso del fruto, encontrándose un promedio de 16,50%.

**Tabla 5. Evaluación morfológica de la palta *Persea americana* Mill var. Hass fuerte**

Muestra	fruto fresco (g)	altura (L) (cm)	ancho (D) (cm)	peso de semilla (g)	peso cáscara (g)	peso pulpa (g)
1	397,90	09,6	06,9	49,60	74,48	273,82
2	453,06	12,1	07,6	72,92	78,41	301,73
3	452,92	12,2	08,0	81,13	78,62	293,17
4	525,02	13,5	09,3	87,57	129,57	307,88
5	522,07	10,7	06,9	107,67	180,52	233,88
6	452,07	11,7	07,8	69,88	78,60	303,59
7	482,40	12,1	07,7	80,06	92,84	309,50
8	536,96	14,2	07,2	78,38	99,44	359,14

9	513,10	12,9	07,5	83,82	128,01	301,27
10	596,30	16,9	08,3	123,07	140,52	332,71
11	468,44	12,5	08,0	95,35	103,92	269,17
12	373,88	09,8	06,7	23,10	105,10	245,68
13	512,89	12,0	07,7	91,90	85,17	335,82
14	552,99	13,6	10,5	110,73	117,89	324,37
15	532,95	12,5	08,2	87,49	102,81	342,65
16	569,86	14,3	09,0	101,11	102,48	366,28
17	579,33	15,6	09,7	82,79	130,12	366,42
18	526,76	12,5	08,1	81,99	130,01	314,76
19	479,80	12,1	07,7	94,29	73,37	312,14
20	426,51	12,4	07,9	83,22	69,65	273,64
21	529,86	13,7	08,0	84,03	114,20	331,63
22	555,70	14,4	08,4	92,34	120,17	343,19
23	592,37	16,7	09,5	112,77	113,45	366,15
24	380,61	10,7	07,1	28,92	143,26	208,43
25	507,69	12,9	07,9	66,33	81,17	360,19
26	515,71	13,2	07,8	90,19	121,30	304,22
27	435,61	10,5	07,0	67,87	85,51	282,23
28	558,41	13,9	08,3	92,63	120,21	345,57
29	425,57	09,9	06,7	73,76	67,93	283,88
30	568,00	15,1	09,1	111,6	199,13	257,27
31	574,71	15,2	09,2	95,71	148,84	330,16
32	467,56	11,2	07,2	69,02	131,60	266,94
33	537,80	12,9	08,6	89,43	124,76	323,61
34	515,41	13,2	08,7	92,06	96,31	327,04
35	468,51	10,7	07,3	51,60	150,04	266,87
36	601,66	17,6	09,7	85,98	142,54	373,14
37	607,93	17,5	09,9	105,11	144,14	358,68
38	483,77	13,5	09,3	89,75	73,74	320,28
39	581,93	16,0	10,8	91,45	120,72	369,76
<b>Promedio</b>	<b>509,33</b>	<b>13,128</b>	<b>8,236</b>	<b>84,02</b>	<b>112,83</b>	<b>312,48</b>
<b>Porcentaje</b>	<b>100</b>			<b>16,50</b>	<b>22,15</b>	<b>61,35</b>

Fuente: Elaboración propia, 2013.

## 4.2 Obtención de la harina de semilla de *Persea americana* Mill. Var. Hass fuerte

### 4.2.1 Deshidratación de las semillas aisladas

Las semillas enteras (incluido el epispermo) aisladas del fruto, luego de las mediciones, se llevaron a deshidratar en horno eléctrico, mediante calor por convección a 45 °C hasta peso constante. Determinándose el peso seco (g) y porcentaje de peso seco de la semilla (%).

**Tabla 6. Evaluación de las semillas deshidratadas**

Semilla de palta	Peso (g)	Porcentaje (%)
Semilla fresca	84,02	100,00
Semilla deshidratada	29,87	35,60

Fuente: Elaboración propia, 2013.

### 4.2.2 Obtención de la harina de semilla de palta

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

La harina de los cotiledones de la semilla de palta fue luego caracterizada sobre el tamaño de partículas. A continuación se muestran los resultados de dicha evaluación.

**Tabla 7. Grado de tamizaje de la harina de semilla de palta**

N° de tamiz	Peso (g)	Material Retenido (%)	Factor	(Factor)( % ) Subtotal
30	48,18	48,41	7	338,87
40	20,84	20,94	6	125,64
50	13,51	13,57	5	67,85
60	2,66	2,67	4	10,68
80	13,71	13,77	3	41,31
100	0,48	0,48	2	0,96
120	0,09	0,09	1	0,09
Plato	0,06	0,06	-	-
Total	99,53	100,00	-	585,42

Módulo de finura=  $585.42/100=5.854$

Fuente: Elaboración propia, 2013.

**Tabla 8. Tamizaje de la harina de semilla de palta en el tamiz N° 70**

<b>N° de tamiz</b>	<b>Peso (g)</b>	<b>Material Retenido (%)</b>	<b>Factor</b>	<b>(Factor)( % ) Subtotal</b>
30	09,73	09,74	4	38,97
70	60,81	60,89	3	182,67
80	25,51	25,54	2	51,09
100	03,51	03,51	1	3,51
Plato	00,31	00,31	-	-
Total	99,87	100,00	-	276,24

Módulo de finura=  $276.24/100=2.762$

Fuente: Elaboración propia, 2013.

**Tabla 9. Tamizaje de la harina de semilla de palta en el tamiz N° 80**

<b>N° de tamiz</b>	<b>Peso (g)</b>	<b>Material Retenido (%)</b>	<b>Factor</b>	<b>(Factor)( % ) Subtotal</b>
30	90,74	90,86	4	363,43
70	8,38	8,39	3	25,17
80	0,57	0,57	2	1,14
100	0,09	0,09	1	0,09
Plato	0,08	0,08	-	-
Total	99,86	99,99	-	389,84

Módulo de finura=  $389.84/100=3.898$

Fuente: Elaboración propia, 2013.

#### **4.3 Análisis químico proximal de la harina de semilla de *Persea americana* Mill. Var. Hass fuerte**

La humedad, proteína, extracto etéreo, cenizas y contenido de fibra cruda en ASF se determinaron por triplicado siguiendo los métodos estándar de la Asociación de Químicos Analíticos Oficial Internacional (AOAC), y el contenido total de carbohidratos se calculó como la diferencia a un total de 100%. La fibra dietética también se determinó por triplicado utilizando métodos de la AOAC 997.08 y 999.03.



**Tabla 10. Análisis químico proximal de la semilla de palta (materia prima)**

Componentes	g/100 g de muestra de parte útil				
	M <sub>1</sub>	M <sub>2</sub>	M <sub>3</sub>	Promedio	Destándar
<b>Humedad</b>	59,4500	58,2800	57,7300	58,4866	± 0,8784
<b>Proteínas(x 6,25)</b>	2,1000	1,8500	2,0700	2,0066	± 0,1365
<b>Lípidos</b>	1,8900	2,2200	1,7100	1,9400	± 0,2586
<b>Cenizas</b>	2,3500	2,7300	2,1800	2,4200	± 0,2816
<b>Fibra cruda</b>	4,8900	4,8000	4,9600	4,8833	± 0,0802
<b>Carbohidratos</b>	29,3200	30,1200	31,3500	30,2633	± 1,0225

Fuente: Elaboración propia, 2013.

#### **4.4 Obtención del aceite de semilla de *Persea americana* Mill. Var. Hass fuerte**

Se utilizó 5,0 g. de materia seca de harina de semilla de palta para extraer tanto con hexano como con etanol por extracción tradicional Soxhlet, siguiendo el método recomendado por la Asociación de Químicos Analíticos Oficial Internacional (AOAC). El uso de la técnica de extracción con el hexano dio como resultado promedio de 6,14% y con el etanol dio como resultado 22,98% de aceite con respecto a la materia prima.

**Tabla 11. Rendimiento de la extracción del aceite de semilla de palta**

SOLVENTE	NÚMERO DE EXTRACCIONES (% respecto a la Materia Prima)				
	M <sub>1</sub>	M <sub>2</sub>	M <sub>3</sub>	Promedio	Destándar
<b>HEXANO</b>	6,2674	5,9874	6,1678	6,14008667	± 0,141929
<b>ETANOL</b>	24,3489	23,2781	21,2753	22,9674433	± 1,560172

Fuente: Elaboración propia, 2013.

#### 4.5 Análisis fisicoquímico del aceite de semilla de *Persea americana* Mill. Var. Hass fuerte

##### 4.5.1 Análisis fisicoquímico realizado a las muestras antes del proceso de extracción aceite por el método de Soxhlet

Tabla 12. Análisis fisicoquímicos realizados a las muestras iniciales para el proceso de extracción del aceite

Muestra	% Acidez	pH	T °C	° Brix	I.R
1	0,20	6,49	17,6	1,50	1,3352
2	0,19	6,51	17,7	1,45	1,3350
3	0,19	6,52	17,6	1,50	1,3353
<b>Promedio</b>	<b>0,19</b>	<b>6,51</b>	<b>17,6</b>	<b>1,50</b>	<b>1,3352</b>

Fuente: Elaboración propia, 2013.

##### 4.5.2 Análisis fisicoquímico del aceite de semilla de palta

Tabla 13. Parámetros fisicoquímicos del aceite de semilla de palta

Parámetros fisicoquímicos	M <sub>1</sub>	M <sub>2</sub>	M <sub>3</sub>	Promedio	Destándar
Índice de acidez (mg KOH/g de grasa)	2,105	2,134	2,129	2,123	±0,0155
Índice de peróxidos (meq oxígeno activo/1000g de grasa)	1,456	1,365	1,387	1,403	±0,0475
Índice de saponificación(mg KOH/g de grasa)	245,67	238,94	249,73	242,305	±5,4498
Índice de iodo(g de Iodo/100 g de grasa)	70,34	67,95	73,58	70,623	±2,8257
Índice de refracción a 25°C)	1,4678	1,4560	1,4734	1,465	±0,0888
Viscosidad a 37°C (centistokes)	41,123	39,874	40,653	40.551	±0,6308
Gravedad específica(g/cm <sup>3</sup> )	0,945	0,897	0,915	0,919	±0,0244
Cenizas (%)	0.187	0.157	0.178	0.174	±0,0158
Humedad (%)	0,012	0,025	0,019	0.0187	±0,0065

Fuente: Elaboración propia, 2013.

#### 4.6 Análisis fitoquímico del extracto etanólico de aceite de semilla de *Persea americana* Mill. Var. Hass fuerte

Se realizó el análisis preliminar cualitativo fitoquímico del extracto etanólico del aceite de semilla de palta. Este análisis fue desarrollado en el laboratorio del Centro de control analítico de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de San Marcos, Tabla 14.

**Tabla 14. Análisis fitoquímico preliminar realizado al extracto etanólico del aceite de semilla de palta.**

ANALITO	RESULTADO
QUINONAS	++
TRITERPENOS Y ESTEROIDES	+++
LACTONAS	+
COMPUESTOS FENÓLICOS	+
AMINOÁCIDOS LIBRES	+
FLAVONOIDES	+
COMPUESTOS LACTÓNICOS	+

Leyenda: (+) trazas, (++) cantidad moderada y (+++) cantidad abundante

Fuente: Informe del Laboratorio CENPROFARMA, Facultad Farmacia y Bioquímica-UNMSM. 2013.

#### 4.7 Análisis del perfil de ácidos grasos del aceite de semilla de *Persea americana* Mill. Var. Hass fuerte

Mediante la técnica de cromatografía de gases se ha analizado la muestra de aceite de semilla de palta en el laboratorio de Bromatología de la UNCP (véase resultados de cromatogramas en anexos, Figuras 25 al 28).

**Tabla 15. Análisis cromatográfico de gases del aceite de semilla de palta para determinar los ácidos grasos.**

PICOS	TIEMPO DE RETENCIÓN	ACIDO GRASO	CONCENTRACIÓN (%)
1	10,14 min	Desconocido	-.-
2	37,32 min	Ácido Palmítico	20,963
3	43,04 min	Ácido Oleico	18,099
4	45,02 min	Ácido Linoleico	48,766
5	47,25 min	Ácido Linolénico	12,171

Fuente: Elaboración propia, 2013.

#### 4.8 Prueba de estabilidad del aceite de semilla de *Persea americana* Mill. Var. Hass Fuerte

**Tabla 16. Evaluación de la estabilidad del aceite de semilla de palta mediante el Índice de acidez (% Ácido oleico)**

TIEMPO (DÍAS)	IA <sub>M1</sub>	IA <sub>M2</sub>	IA <sub>M3</sub>	I. ACIDEZ PROMEDIO
0	2,1050	2,1340	2,1290	2,1227
7	2,0218	2,1898	2,0845	2,0987
14	2,2495	2,2404	2,1579	2,2159
21	2,4822	2,4843	2,6055	2,5240
28	2,5921	2,5852	2,6255	2,6009
35	2,6450	2,6639	2,7220	2,6770
42	2,7645	2,8083	2,8699	2,8142
49	2,7895	2,8320	2,9260	2,8492
56	3,2574	3,3664	3,2548	3,2929

Fuente: Elaboración propia, 2014.

**Tabla 17. Evaluación de la estabilidad del aceite de semilla de palta mediante el índice de peróxido (meq O<sub>2</sub>/kg)**

TIEMPO (DÍAS)	IP <sub>M1</sub>	IP <sub>M2</sub>	IP <sub>M3</sub>	I. PERÓXIDO PROMEDIO
0	1,4560	1,3650	1,3870	1,4027
7	1,4550	1,3640	1,3850	1,4013
14	1,4557	1,3660	1,3870	1,4029
21	1,4556	1,3650	1,3880	1,4029
28	1,6870	1,6690	1,6930	1,6830
35	5,8960	5,9750	5,8540	5,9083
42	17,9727	18,1863	17,9282	18,0291
49	31,4093	31,0256	30,9674	31,1341
56	38,4560	38,7350	37,9756	38,3889

Fuente: Elaboración propia, 2014.

#### **4.9 Evaluación de la actividad antioxidante del aceite de semilla de *Persea americana* Mill. Var. Hass fuerte y de las fracciones saponificables e insaponificables**

##### **4.9.1 Evaluación de la actividad antioxidante del aceite en función a la captación del radical DPPH ( $\alpha$ , $\alpha$ -difeníl- $\beta$ -picrilhidrazilo)**

**Actividad antioxidante total.** Se determinó en  $9,676 \pm 0,260$   $\mu\text{mol TE/kg}$ , correspondiente a la suma de la actividad antioxidante del aceite, tanto de la fracción lipofílica ( $8,700 \pm 0,260$   $\mu\text{mol TE/kg}$ ) como la fracción hidrofílica ( $0,976 \pm 0,008$   $\mu\text{mol TE/kg}$ ), Tabla 18.

**Actividad antioxidante de la fracción saponificable.** Se determinó en  $8,700 \pm 0,260$   $\mu\text{mol TE/kg}$ , correspondiente a la actividad antioxidante de la fracción lipofílica, Tabla 18.

**Actividad antioxidante de la fracción insaponificable.** Se determinó en  $7,37 \pm 0,169$   $\mu\text{mol TE/kg}$ , correspondiente a la suma de la actividad antioxidante de la fracción insaponificable, tanto de la fracción lipofílica ( $5,770 \pm 0,125$   $\mu\text{mol TE/kg}$ ) como la fracción hidrofílica ( $1,600 \pm 0,044$   $\mu\text{mol TE/kg}$ ), véase Tabla 18.

**Tabla 18. Evaluación de la Actividad antioxidante por la prueba del DPPH del aceite de semilla de *Persea americana* Mill. variedad Hass fuerte**

MUESTRA	FRACCIÓN LIPOFÍLICA (HEXANO) $\mu\text{mol TE/kg}$		FRACCIÓN HIFROFÍLICA (METANOL) $\mu\text{mol TE/kg}$	
	ACEITE	INSAPONIFICABLE	ACEITE	INSAPONIFICABLE
<b>M1</b>	8,450	5,890	0,967	1,580
<b>M2</b>	8,970	5,780	0,980	1,570
<b>M3</b>	8,680	5,640	0,980	1,650
<b>AA</b>	8,700	5,770	0,976	1,600
<b>PROMEDIO</b>				
<b>Destándar</b>	0,260	0,125	0,008	0,044

Fuente: Elaboración propia, 2014.

#### **4.9.1 Evaluación de la actividad antioxidante del aceite en función a la captación del radical ABTS (2,2' Azinobis (3 etilbenzotiazolina-ácido sulfónico)**

**Actividad antioxidante total.** Se determinó en  $5,313 \pm 0,039 \mu\text{mol TE/kg}$ , correspondiente a la suma de la actividad antioxidante del aceite, tanto de la fracción lipofílica ( $0,470 \pm 0,020 \mu\text{mol TE/kg}$ ) como la fracción hidrofílica ( $4,843 \pm 0,057 \mu\text{mol TE/kg}$ ), véase Tabla 19.

**Actividad antioxidante de la fracción saponificable.** Se determinó en  $0,470 \pm 0,020 \mu\text{mol TE/kg}$ , correspondiente a la actividad antioxidante de la fracción lipofílica, Tabla 19.

**Actividad antioxidante de la fracción insaponificable.** Se determinó en  $9,012 \pm 0,057 \mu\text{mol TE/kg}$ , correspondiente a la suma de la actividad antioxidante de la fracción insaponificable, tanto de la fracción lipofílica ( $4,169 \pm 0,057 \mu\text{mol TE/kg}$ ) como la fracción hidrofílica ( $4,843 \pm 0,057 \mu\text{mol TE/kg}$ ), Tabla 19.

**Tabla 19. Evaluación de la Actividad antioxidante por la prueba del ABTS del aceite de semilla de *Persea americana* Mill. variedad Hass fuerte**

MUESTRA	FRACCIÓN LIPOFÍLICA (HEXANO) $\mu\text{mol TE/kg}$		FRACCIÓN HIDROFÍLICA (METANOL) $\mu\text{mol TE/kg}$	
	ACEITE	INSAPONIFICABLE	ACEITE	INSAPONIFICABLE
<b>M1</b>	0,456	4,234	4,780	4,123
<b>M2</b>	0,467	4,145	4,890	4,087
<b>M3</b>	0,489	4.128	4,860	4,021
<b>AA PROMEDIO</b>	0,470	4,169	4,843	4,080
<b>Destándar</b>	0,020	0,057	0,057	0,052

Fuente: Elaboración propia, 2014.

## CAPÍTULO V

### DISCUSIÓN

Se seleccionaron 39 frutos maduros (estado-M3), luego de su maduración por cinco días a 10 °C se envolvieron en papel kraft. La muestra presentó especímenes de color verde y piel delgada menor a 1 mm y rugosa en uno de los polos del fruto, las mediciones morfológicas en promedio fue: peso del fruto 509,33 g; la pulpa 312,48 g; lo que representa un 61,35% del peso del fruto y la semilla pesa 84,02 g; lo que representa 16,50% del fruto. El fruto de *Persea americana* Mill var Hass fuerte recolectado en el presente estudio (con un peso promedio de 509,33 g) es de mayor tamaño que el descrito en Colombia (334,10 g) (Rojas y col., 2004). Respecto a la morfología del fruto, en el presente estudio se determinó que los frutos presentan un polimorfismo, con especímenes que van desde la forma redondeada hasta las formas piriformes relación L/D (Longitud/Diámetro):  $1,593 \pm 0,145$  con una diferencia estadísticamente significativa ( $p > 0,05$ ), como se aprecian en las fotos de las figuras 5, 7 y 8. Mientras los especímenes descritos por Rojas y col. (2004) son marcadamente piriformes con una relación L/D promedio de 1,6. Sin embargo dicha relación es casi perfectamente igual al encontrado en el presente estudio.

De otro lado, al realizar un análisis bivariable entre el porcentaje de pulpa (en peso) y el peso del fruto a los especímenes con pesos inferiores a 500 g se determinó con un grado de correlación de 0,826 y  $p > 0,05$  que el porcentaje de pulpa resultó en 63,36%, un 2% más que el porcentaje de pulpa promedio



de la muestra estudiada, esto se debería al tamaño proporcionalmente más pequeño de la semilla que presentan los frutos con pesos menores a 500 g; sin embargo, hay diferencias estadísticas significativas, propias del polimorfismo de los injertos en palta, como lo describen Rojas JM (2004), Ferreyra R (2006) y Bernal (2008). De los resultados encontrados se sugiere emplear las paltas var. Hass fuerte de menos de 500 g. para la obtención industrial de aceite de pulpa de palta.

El polimorfismo del fruto es común cuando se cosechan de plantas injertadas, como es el caso de la muestra recolectada en el distrito de Pariahuanca. Es de mayor tamaño en promedio cuando se compara con los frutos recolectados en Colombia. Posiblemente esto se deba a las características edáficas muy favorables del piso ecológico: suelo arcilloso-arenoso, con un buen nivel de aireación y drenaje, adicionalmente la temperatura ambiental es 16-25 °C y una altitud de 2070 msnm. Estas condiciones son consideradas idóneas para el desarrollo del palto y una floración saludable como se encuentra descrito en la investigación desarrollada en Chile por Ferreyra y col., 2006. De otro lado, Whiley *et al.* (1998), también considera importante las horas de iluminación solar para una buena fotosíntesis y floración del palto. Condiciones coincidentes con el piso ecológico de la selva central, con altitudes que se observan en la localidad de Pariahuanca que van de los 1600 a 2070 msnm.

Las semillas frescas y enteras, incluidas su epispermo se llevaron a desecar mediante calor por convección en horno eléctrico a 45 °C hasta peso constante. Se determinó el peso desecado de la semilla en un promedio de 29,87 g., equivalente a un 35,60% del peso promedio de la semilla. Porcentaje coincidente con el promedio de 35,00% determinado por Ceballos y Montoya (2013)<sup>62</sup> para tres variedades: Booth8, Trinidad y Papelillo. Una vez desecada la semilla se aislaron con facilidad los epispermos y se trituraron los cotiledones junto al embrión, empleando un molino de martillo. Utilizando diversos tamices se han separado harinas de diversas finuras. En la Tabla 4 se aprecia la finura 2,762, obtenida mediante el tamiz 70. Harina

que se utilizó como materia prima para la extracción del aceite fijo de semilla y para el análisis químico proximal debido a su alta solubilidad y mayor solvatación.

Para la extracción del aceite de semilla se utilizó el método de Soxhlet, empleando como solventes tanto hexano como etanol. Resultando con mayor porcentaje la extracción con etanol (22,97%) que la extracción con hexano (6,14%), en relación al peso de la harina (véase Tabla 11). La extracción con el solvente etanol muestra una mayor eficiencia debido a que el rendimiento es menor. Es decir el extracto presenta un elevado porcentaje de la fracción acuosa, la cual es rica en moléculas no saponificables, dentro de las cuales se encuentran los polifenoles, fitosteroles, vitamina E, entre otros, como se encuentra reportado en los trabajos de Del Refugio M *et al.* (2004), Dwaogu LA *et al.* (2008) y Takenaga F (2008). Es por ello que este extracto etanólico se utilizó para el análisis fitoquímico en el cual se solubilizan los componentes químicos con comportamiento hidrofílico y dipolar. De otro lado es importante mencionar que Restrepo y col. (2012) utilizaron el método de Soxhlet con hexano para obtener aceite de la pulpa de palta, obteniendo un 17,11% con un rendimiento de 85,50%. La literatura refiere asimismo valores en un rango que van de 15% a 20%. Sin embargo, Rosenthal (2008)<sup>63</sup> refiere un rendimiento de 25% para la variedad Hass. Actualmente la investigación de la composición química del aceite de la pulpa de la palta ha impulsado el desarrollo de diversas técnicas de extracción no oficiales de la AOAC (Asociación de químicos analíticos oficiales). Dentro de las cuales se encuentran los métodos acuosos y enzimáticos como los descritos por Rosenthal (2008), los cuales permiten una mejor conservación de los ácidos grasos insaturados y menos riesgos por solventes tóxicos, con rendimientos de hasta un 80% (Costa, V., 2001)<sup>64</sup> y métodos enzimáticos asociados a las microondas que permiten rendimientos de hasta un 90% (Jiménez, y col., 2001)<sup>65</sup>. Recientemente se viene utilizando una tecnología emergente como lo es la extracción mediante fluidos supercríticos lo que permitió alcanzar una máxima extracción de 18,9% de aceite de pulpa de palta con un índice de acidez de 4,48%, una baja oxidación de ácidos grasos 16,87 meqO<sub>2</sub>/kg y un

mayor índice de yodo 80,18  $\text{cgl}_2/\text{g}$ , preservando asimismo la riqueza de la vitamina E y ser una tecnología amigable con el medio ambiente (Restrepo y col., 2012).

El análisis químico proximal de la semilla de palta reportó un contenido de humedad de 58,48%; dentro de los macronutrientes se destaca un contenido de 30,26% de carbohidratos, 2,00% de proteínas y 1,94% de lípidos; finalmente un 4,88% de fibra cruda y 2,42% de cenizas. Actualmente no se tienen estudios bromatológicos oficiales sobre semilla de palta, debido probablemente a que la semilla de palta es considerada un material de desecho del procesamiento industrial de la palta. Sin embargo, Ceballos y Montoya (2013) realizaron un estudio bromatológico sobre las fracciones: cáscara, pulpa y semilla de tres variedades de palta cultivadas en Colombia (Booth8, Trinidad y Papelillo), con la finalidad de identificar carbohidratos solubles y fibra cruda; y adicionalmente observar al variación del contenido de macronutrientes entre los estadios de madurez fisiológica (al momento de la recolección) y madurez comercial (luego de 8 días de maduración en almacenamiento). El reporte de los resultados bromatológicos resta la concentración porcentual de carbohidratos solubles y fibra cruda. Luego de realizar los cálculos de ajuste se encuentran resultados muy comparables para el estudio químico proximal de la semilla de la presente investigación, especialmente con la concentración de macronutrientes proteínas 1,87%, lípidos 1,37%; fibra cruda 4,99% y cenizas 3,03% para la variedad Papelillo. Encontrándose también valores muy similares para las otras variedades (Booth y Trinidad). En lo que se refiere a la investigación de carbohidratos solubles y fibra cruda, Ceballos y Montoya (2013), concluyen que la semilla contiene un 40%, reportando un 0,27 g/g de carbohidratos solubles y un 0,11 g/g de fibra cruda en relación a la materia seca. Cifras coincidentes con el presente estudio en el que se reporta 30,26% para carbohidratos (solubles) y 11,75% para la fibra cruda -haciendo el cálculo de ajuste-. Es importante destacar que la fibra cruda está compuesta por celulosa y hemicelulosa. Encontrándose lignina sólo en la cáscara, como lo describen Ceballos y Montoya (2013). De los resultados encontrados en el presente estudio se

concluye que la semilla es una fuente importante de carbohidratos solubles por lo que se recomienda realizar una caracterización del mismo para su aprovechamiento industrial en consideración a que la semilla representa un 35% del peso total del fruto y en teniéndose en cuenta que Olaeta J y col. (2012) y diseñaron un “snack”, extruido con contenido de harina de semilla de palta y semilla de maíz en una proporción de 40-60% con resultados satisfactorios.

Se han efectuado incisiones en la pulpa del fruto de la palta afín de extraer las semillas. En este proceso se recolectó el fluido exudado del fruto y sobre éste se efectuaron pruebas fisicoquímicas preliminares. Determinándose un promedio de % de acidez 0,193%, pH 6,50, °Brix 1,50 y el índice de refracción 1,3352. A diferencia de la mayoría de las frutas, la palta no alcanza la madurez en el árbol, sino luego de un proceso de maduración mediante su almacenamiento por siete a dieciséis días, preservado de la luz y una temperatura adecuada de 10 a 15 °C. La madurez fisiológica que determina su cosecha está dado por las características externas del fruto como son: el color y el tamaño y por la concentración mínima del aceite de la pulpa que debe ser de 8% (Ozdemir, 2004). Sin embargo, la madurez comercial es difícil de determinarse en la palta var. Hass fuerte porque su inicio no está acompañado de cambios externos visibles en lo que se refiere al color y la textura y además es variable en las diferentes variedades (Jiménez *et al.*, 2001). Durante este proceso de almacenaje tiene lugar en la pulpa de la palta la biosíntesis de ácidos grasos con el aumento correspondiente del contenido lipídico y una pérdida proporcional del agua. Durante este proceso se puede incrementar entre 100 y 150% el contenido lipídico de la pulpa cuando se alcanza la madurez comercial. El período para su consumo puede durar un promedio de siete días. Para determinar la madurez comercial, una prueba mecánica es medir la textura del fruto entre 4,0 y 5,5 k-f/cm<sup>2</sup>, después de este período el fruto pierde agua, se torna oscuro y la textura de la pared se debilita (Baudi, 1997)<sup>66</sup>. Actualmente, el análisis fisicoquímico preliminar aplicado a la pulpa, mediante la determinación de los indicadores % de acidez, pH, sólidos totales (°Brix) y el índice de refracción permite identificar

con precisión grados de maduración comercial E1-V (verde), E-2P (pintón) y E3-M (maduro). El pH es un buen indicador del estado de madurez. Según Buelvas y col. (2012)<sup>67</sup> el pH varía de 6,49 para el estadio maduro hasta un 6,26 para el estadio verde. Asimismo los mismos autores establecieron la fórmula del índice de madurez comercial del fruto, mediante la relación Sólidos totales (°Brix)/Índice de acidez (% de acidez) para determinar el grado de madurez del fruto. El pH de la pulpa del fruto en estado de madurez comercial (E3-M) tuvo un promedio de 6,50 comparable con el valor promedio de 6,41 encontrado por (Buelvas y col. (2012) y valores máximos de 6,49. La medición de Índice de madurez, es un indicador más sensible de madurez comercial. Sin embargo, en el presente estudio no se pudo medir debido a que los valores de sólidos solubles (°Brix) en el presente estudio se efectuaron sobre fluido exudado de pulpa, cuyo valor promedio es 1,5; obviamente valor mucho menor que el reportado por Buelvas y col. (2012), de 7,39, quienes realizaron esta medición directamente sobre pulpa de la palta.

La calidad que presenta el aceite de semilla de palta se caracterizó a través de los principales parámetros fisicoquímicos, cuyos resultados fueron: índice de acidez (mgKOH/g aceite)  $2,123 \pm 0,0155$ , índices de peróxidos (meq de oxígeno activo/1000 g de aceite)  $1,403 \pm 0,0474$ , índice de saponificación (mg KOH/g aceite)  $242,305 \pm 5,4497$ , índice de iodo (g de iodo/100 g aceite)  $70,623 \pm 2,8256$ , índice de refracción (25 °C)  $1,465 \pm 0,0888$ , viscosidad a 37 °C (centistokes)  $40,551 \pm 0,6307$ , gravedad específica (g/cm<sup>3</sup>)  $0,919 \pm 0,0243$ , cenizas (%)  $0,174 \pm 0,0158$ , humedad (%)  $0,0187 \pm 0,0065$ , mostrando valores con una diferencia estadísticamente no significativa ( $p < 0,05$ ).

Si bien es cierto que recientemente se vienen efectuando investigaciones sobre métodos y técnicas industriales eficientes para la obtención del aceite de la pulpa de la palta con fines comerciales culinarios, métodos especialmente amigables con el medio ambiente como la extracción por fluidos supercríticos o mediante el empleo de enzimas (Restrepo y col., 2012). Actualmente son escasos los estudios completos sobre la calidad

fisicoquímica del aceite de semilla. Es posible que esto se deba al bajo contenido de aceite presente en la semilla. El contenido total de aceite en la semilla es de apenas 1,94 % (véase Tabla 10) en relación al peso total de semilla fresca de palta en estadio de madurez comercial E3-M por lo tanto no es de interés industrial.

El índice de acidez es un importante indicador de la calidad de un aceite, un valor de 2,123 es relativamente bajo. Expresa la concentración de ácidos grasos libres. El índice de acidez elevado guarda relación con la exposición a temperaturas elevadas durante los procesos de extracción. Se considera que la primera extracción en frío mediante prensa de madera roble permite obtener aceites denominados extravirgen, cuyos valores son menores a 0,8; Méndez y Falqué (2007)<sup>68</sup> encontraron valores entre 0,30% y 0,45% para el aceite de oliva comercial extra virgen. En un estudio recientemente desarrollado por Restrepo y col. (2012) comprobaron que el aceite de pulpa de palta obtenido por el método de Soxhlet tuvo un valor de 1,68%; por el método de prensado en frío 4,63% y por extracción de fluidos supercríticos - CO<sub>2</sub>- 0,48%. Asimismo Jiménez y col. (2001) reportan distintos valores dependiendo del método de extracción, más recientemente se encuentran valores para el índice de acidez en un rango de 0,50-1,50% (Rincón, 2009)<sup>69</sup>.

El índice de iodo para el aceite de semilla de palta en el presente estudio fue de 70,623 g de I<sub>2</sub> /100 g de aceite. Valor elevado que revela la riqueza de ácidos grasos insaturados y poliinsaturados. Todos los aceites son triglicéridos que contienen ácidos grasos insaturados y los más nutritivos ácidos grasos poliinsaturados. Los aceites tipo extra virgen tienen máximos valores de índice de yodo entre 85 y 90 (Norma Técnica Mexicana)<sup>70</sup>. Un elevado índice de iodo revela que el aceite tiene un alto grado de insaturaciones, dando evidencia indirecta de la presencia de ácidos poliinsaturados. La capacidad de producir ácidos grasos insaturados se debe a mecanismos propios de la planta, mediante la biosíntesis de ácidos grasos, mecanismo llevado a cabo por el complejo multienzimático, proteína dimérica y genéticamente codificada, que utiliza como precursor al acetil-Coenzima A, en un ambiente anaeróbico y mediante un proceso endergónico (Ariza *et al*,

2011)<sup>71</sup>. Este proceso de biosíntesis de ácidos grasos es también afectado por factores ambientales de precosecha como la luz, temperatura, riego, constituyentes del suelo, daños físicos y ataque de plagas (Ozdemir, 2004). Las condiciones de estrés antes mencionadas que sufre la planta desencadena reacciones oxidativas que deterioran la calidad del aceite presente en la pulpa del fruto de la palta (Jiménez y col., 2001). De otro lado, el índice de yodo es un indicador sensible que revela el daño térmico sufrido por el aceite durante el proceso de su extracción, como quedó demostrado por Restrepo y col. (2012), quienes encontraron valores de índice de yodo en aceite de pulpa de palta de 70,85; 78,44 y 90,18, para los métodos de extracción Soxhlet, expresión en frío y fluidos supercríticos, respectivamente. Evidenciándose de este modo que la extracción (a temperatura ambiental) protegió los enlaces dobles, aún más que la expresión en frío, empleada como técnica tradicional para la obtención de aceite extra virgen, como quedó demostrado en las extracciones por fluidos supercríticos usando CO<sub>2</sub> realizado por Restrepo *et al.* el año 2012.

El índice de saponificación del aceite de semilla de palta fue de 242,3. Indica la riqueza de enlaces éster en las moléculas de Triacilgliceroles, e indirectamente demuestra la presencia de ácidos grasos libres por la acción hidrolítica de algunas lipooxigenasas que podrían estar presentes en el aceite. El aceite obtenido de la semilla de palta en la presente investigación se encuentra muy por encima de lo establecido por la norma técnica que es de entre 177-198 mg KOH/g (Norma Mexicana); y también resulta superior a los valores obtenidos por Farhoosh *et al.* (2009)<sup>72</sup>, para aceite de soya y aceite de canola obtenido después de aplicar los procedimientos del proceso de refinación. De otro lado, Restrepo y col. (2012) encontraron valores de índice de saponificación para el aceite de pulpa de palta de 175,07±2,98; 223,69±6,57 y 226,18±1,11 para las extracciones por los métodos de Soxhlet, expresión en frío y fluidos supercríticos. Lo que demuestra que el calor de del proceso de extracción puede hidrolizar los enlaces éster de los triglicéridos o que las enzimas lipoxigenasas se activan a mayor temperatura de almacenamiento.

La gravedad específica para el aceite de semilla fue de  $0,919 \pm 0,0243 \text{ g/cm}^3$ , valor que se encuentra en un nivel superior de lo establecido por la norma técnica que es de 0,910 - 0,920 para los aceites de calidad extra virgen. Este indicador de la calidad del aceite se encuentra por encima de la calidad del aceite de pulpa de palta extraído por el método de Soxhlet que fue de  $0,874 \pm 0,05$  (Restrepo y col., 2012).

El extracto etanólico de la harina de semilla palta, a diferencia del extracto en hexano (6,14%), presenta un mayor rendimiento porcentual (22,97%), respecto al peso de la harina de semilla. La polaridad del etanol permite extraer sustancias lipofílicas no saponificables, de naturaleza química variada y con poder antioxidante. Mediante el análisis fitoquímico se identificaron los siguientes componentes: triterpenos y esteroides en cantidad abundante, quinonas en cantidad moderada y trazas de lactonas, compuestos fenólicos, compuestos lactónicos, flavonoides y aminoácidos libres, véase reporte de análisis en Anexo 3.

El análisis cromatográfico de gases para identificar ácidos grasos permitió identificar cinco picos: el primer pico a 10,14 min no fue identificado por ninguno de los estándares empleados. Los cuatro picos restantes se identificaron en el rango de 37,32 min a 47,25 min, revelando concentraciones porcentuales de 20,96 para el ácido palmítico, 18,10 ácido oleico, 48,77 ácido linoleico (omega-6) y 12,17 ácido linolénico (omega-3).

La presencia de ácidos grasos insaturados es una de las principales características de la palta. En este fruto, el principal precursor de nuevos ácidos grasos es la coenzima acetil-CoA; la presencia de insaturaciones se debe a los mecanismos propios de la planta para fijar dobles enlaces y la producción de ácidos grasos poliinsaturados se consigue gracias al retículo endoplasmático. La biosíntesis de ácidos grasos es afectada también por factores ambientales de pre cosecha como luz, temperatura, riego, constituyentes del suelo, daños físicos y ataque de plagas (Ozdemir y Topuz, 2004).



La auto-oxidación de los aceites procedentes de las semillas oleaginosas se debe a la oxidación de ácidos grasos poliinsaturados, los cuales se encuentran libres o formando parte de los triglicéridos. Este proceso se inicia por la exposición a la luz en presencia de un factor sensibilizante como lo es la clorofila (Pokorny y col., 2005)<sup>73</sup>. Por otro lado, la presencia de fosfolípidos presentes en las membranas celulares y la lipooxigenasa puede provocar la descomposición del aceite durante el proceso de su obtención y provocar fragancias, a veces considerados agradables y característicos del aceite. Las reacciones de auto-oxidación usualmente pasan por un periodo de iniciación en el cual se aprecian muy pocos cambios en el aceite. Recién al final del periodo de iniciación se aprecian los olores desagradables (Pokorny y col., 2005). El mecanismo se inicia por la formación de hidroperóxido por acción de la lipooxigenasa catalizada por algunos cationes metálicos, esto puede tener lugar durante el proceso de extracción. Los hidroperóxidos no tienen olor ni sabor. Los productos de reacción como los alcoholes, carbonilos y los carboxilos, producen un aumento de sabor y olor desagradables propios de los alimentos oxidados (Shahidi, 1997)<sup>74</sup>. Se han determinado las velocidades comparativas de oxidación de algunos ácidos insaturados; oleico: linoleico; linolénico, como 1:12:25 y esteárico: oleico: linoleico, como 1:100:1000 (Silbert, 1962)<sup>75</sup>.

El índice de acidez es un indicador de la estabilidad del aceite durante su almacenamiento. En la Tabla 16, se aprecian los valores del índice de acidez del aceite de semilla de palta, mediante su medición semanal durante un periodo de 56 días de almacenamiento. Durante este tiempo su valor va incrementándose progresivamente desde 2,1227 hasta 3,2929, correlación de Pearson altamente significativa de 0,967 para  $p=0,02$ ; recién en la octava semana de almacenamiento se presenta un incremento del índice de acidez significativamente elevado. Este incremento demuestra el inicio de período de propagación en el cual tiene lugar la formación de moléculas derivadas de los radicales libre (alcoholes, carbonilos entre otros), mientras que durante las siete primeras semanas tiene lugar el período de iniciación en los cuales se forman los radicales libres a partir de moléculas lipídicas (Pokorny y col., 2005).

El índice de peróxido es el método químico más empleado para medir el deterioro oxidativo de los aceites, aunque los hidroperóxidos se descomponen en una mezcla compleja de productos volátiles y no volátiles que posteriormente reaccionan para formar endoperóxidos y otros productos. La medida del IP (Índice de peróxido) es una forma útil para valorar el grado de deterioro que experimenta un aceite durante su almacenamiento (Huang *et al.*, 1995)<sup>76</sup>. En la Tabla 17 se aprecian los valores del índice de peróxido del aceite de semilla de palta, mediante su medición semanal por un periodo de 56 días de almacenamiento. Durante este tiempo su valor se presenta como una ligera meseta desde 1,4027 para la primera semana hasta 1,6830 en la cuarta semana de almacenamiento. Luego, a partir de la quinta semana de almacenamiento se observa un significativo incremento del índice de peróxido, desde 5,9063 para la quinta semana hasta 38,3889 para la octava semana de almacenamiento. Estos valores permiten apreciar una figura recta característica de doble pendiente como lo presenta Pokorny y col. (2005). Los hidroperóxidos lábiles y volátiles se comienzan a formar hacia la quinta semana, cuando tiene lugar el inicio de la rancidez, más tarde el valor del índice de peróxidos puede disminuir significativamente (Rady, A y Madkour M., 1995)<sup>77</sup>.

Actualmente se viene revalorando las bondades nutraceuticas de la palta como un alimento que demuestra ser una alternativa natural y preventiva en casos de pacientes con dislipidemias (Anderson y col., 2009)<sup>78</sup> y se vienen llevando a cabo experimentos empleando extractos y harina de la semilla para demostrar sus bondades en el tratamiento de hipercolesterolemia (Pahua *et al.*, 2012)<sup>79</sup>, contra hiperplasia prostática y casos de cáncer mediante diseños y modelos de investigación en animales de experimentación (Ding *et al.*, 2007)<sup>80</sup>. De otro lado, industrialmente se vienen desarrollando técnicas emergentes para mejorar el rendimiento y eficiencia en la extracción del aceite de pulpa. El cual demostró tener una calidad tipo extravirgen (índice de acidez de 0,48) cuando se extrajo por el método de extracción por fluidos supercríticos empleando anhídrido carbónico, convirtiéndose así en una alternativa al aceite de oliva extravirgen (Restrepo y col., 2012).

La producción industrial de aceite de palta genera una gran cantidad de descartes orgánicos con la cáscara y la semilla. En el presente estudio se determinó que la semilla representa el 35,60% del peso total del fruto fresco y maduro (EM-3), véase Tabla 6. De otro lado, la literatura consultada refiere numerosos usos medicinales de la semilla de la palta dentro de los cuales se destacan los usos como: antiparasitario en nematodiasis y protozoarios intestinales (Rodríguez-Carpena *et al.*, 2011), para el tratamiento en caída del cabello, inflamación de la próstata, entre otros (Mostacero y col., 2011). En este trabajo de investigación se tuvo como objeto de estudio a la semilla de *Persea americana* Mill. variedad Hass fuerte y se planteó como objetivo principal la caracterización del aceite de semilla y la evaluación de su poder antioxidante total y de sus fracciones saponificables e insaponificables. Para tal fin la semilla fue desecada completamente, triturada y utilizando la harina seca resultante se extrajo el aceite mediante el método de Soxhlet. En principio se debe tener en cuenta que la semilla es un sistema biológico, en el cual encontramos el embrión y dos grandes cotiledones, los cuales tienen la función de alimentar a la planta durante la germinación por medio de la reproducción sexual, mecanismo ancestral de reproducción. Con fines comerciales, actualmente la reproducción es de tipo vegetativa mediante el empleo de injertos de yemas. Teniendo en cuenta este origen para la harina de semilla es más sencillo comprender que el aceite obtenido de la semilla de palta se constituye en un verdadero sistema lipídico en equilibrio homeostático, en el cual se identifican componentes químicos que favorecen la autooxidación del aceite entre los cuales destacan la clorofila procedente de los cotiledones y que le otorgan un color característicamente verdoso al aceite. El aceite de pulpa de palta tiene diez veces más concentración que el aceite de oliva (de 40 a 60 ppm) y el aceite extraído de la semilla tiene un tono verdoso que evidencia un elevado contenido de clorofila (Pokorny y col., 2005). Este componente favorece el daño del aceite cuando se expone a la luz; otro componente que favorece al autooxidación lo constituyen los fosfolípidos procedentes de las membranas celulares; y finalmente la presencia de la enzima lipooxigenasa favorecen este proceso oxidativo cuando el aceite se expone a la luz, se conserva en temperaturas

relativamente altas y cuando se envasa con atmósferas de aire y en recipientes metálicos (Pokorny y col., 2005). En oposición a los componentes oxidantes se encuentran los componentes que tienen un poder o actividad antioxidante, dentro de los cuales se destacan las vitaminas liposolubles: A, D, E y K; los fosfolípidos y la Clorofila (Wang *et al.*, 2010)<sup>81</sup>.

Pahua *et al.* (2012) han investigado el efecto hipocolesterolémico de la harina de semilla de palta empleado en un modelo de investigación con ratones. Por la elevada concentración de productos fenólicos en la harina. Ellos hicieron una identificación de los principales compuestos fenólicos, entre los cuales por su concentración (expresado en  $\mu\text{g/g}$ ) destacan: Acido Protocatecuico ( $128,18 \pm 0,01$ ), Kemferido ( $107,42 \pm 0,04$  y ácido Vanílico ( $28,67 \pm 0,001$ ), en menor proporción de identificó Kemferol, Rutina, ácido Clorogénico y ácido Siríngico. Estos compuestos serían los responsables del elevado poder antioxidante ( $173,3 \mu\text{mol Trolox equivalente/g}$  peso seco de harina de semilla) cuando se evaluó el extracto metanólico por el método de ABTS (2, 2'-azino-bis - ácido 3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico) (Soong y Barlow, 2004)<sup>82</sup>.

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

En el presente trabajo se determinó que la actividad antioxidante total del aceite de semilla de palta por el método del radical DPPH  $9,676 \mu\text{mol}$  de Trolox (Ácido 6-hidroxi-2,5,7,8 tetrametilcroman-2-carboxílico) equivalente por kg, mientras la fracción saponificable alcanzó un valor de 8,700 y la fracción insaponificable alcanzó un valor de 7,37, véase la Tabla 18. Lo que demuestra la actividad de los componentes hidrofílicos y lipofílicos en sistemas aislados en solventes orgánicos de diferente polaridad. En el método del DPPH se mide la captación de este radical a través de la disminución de la absorbancia, medida a  $515 \text{ nm.}$ , que se produce por la

reducción de un antioxidante (AH) o por reacción con especies radicales ( $R^\circ$ ) (Brand-Williams *et al.*, 1995)<sup>83</sup>.

Complementariamente, en el presente trabajo se evaluó la actividad antioxidante total del aceite de semilla de palta por el método de ABTS alcanzándose un valor de 5,313  $\mu\text{mol}$  de Trolox equivalente/kg, mientras la fracción saponificable resultó con un valor de 0,470 TE/kg, en cambio la fracción insaponificable alcanzó un valor de 9,012 TE/kg. Valor casi el doble del antioxidante total del aceite, véase Tabla 19. Esto se debe a que el ABTS es un radical catiónico mucho más reactivo que el DPPH la reacción transcurre en tan solo un minuto y tiene afinidad con los antioxidantes polares como los polifenoles (Miller *et al.*, 1993)<sup>84</sup>.

Los esteroides, los tocoferoles y los tocotrienoles son un importante grupo de antioxidantes presentes en semillas oleaginosas (Gordon y Magos *et al.*, 1983)<sup>85</sup>. En consideración a esta información y, aplicándose el método de la inhibición de la autooxidación descrito por Pokorny y col. (2005) se ha medido la inhibición de la autooxidación del aceite de semilla de palta en comparación a la actividad inhibitoria del estándar de alfa-tocoferol, observándose una actividad inhibitoria (%) con valores muy parecidos, destacándose que a una misma concentración de 2000 mg/kg se tuvo: 97,93% para el estándar de alfa tocoferol frente a 94,83% para el aceite de semilla de palta, véase en la Tabla 28 y Figura 24, en Anexo 2.

## CAPÍTULO VI

### CONCLUSIONES

1. La caracterización fisicoquímica del aceite de semilla se *Persea americana* Mill. Var. Hass, mediante los parámetros de la AOCS (Sociedad Americana de la Química del Aceite), demostró que la calidad del aceite extraído es comparable a la calidad del aceite de oliva extravirgen. Asimismo el tamizaje fitoquímico del extracto etanólico de la semilla permitió identificar: triterpenos y esteroides en cantidad abundante, quinonas en cantidad moderada y trazas de lactonas, flavonoides, aminoácidos y compuestos fenólicos.
2. La actividad antioxidante total del aceite de semilla de *Persea americana* Mill. Var. Hass fuerte demostró ser muy elevada cuando se evaluó con el radical hidrofílico DPPH. Asimismo se comprobó que la actividad antioxidante total del aceite que alcanzó valores equivalentes al mostrado por el patrón de Vitamina E ( $\alpha$ -Tocoferol).
3. La actividad antioxidante de la fracción saponificable del aceite de semilla de *Persea americana* Mill. Var. Hass fuerte resultó muy elevada en la prueba del DPPH, con comportamiento hidrofílico, en comparación con la fracción insaponificable.
4. La actividad antioxidante de la fracción insaponificable del aceite de semilla de *Persea americana* Mill. Var. Hass fuerte resultó elevada en

la Prueba ABTS, radical catiónico, de mayor afinidad con la fracción insaponificable.

## **CAPÍTULO VII**

### **RECOMENDACIONES**

Se proponen las siguientes recomendaciones:

1. Realizar investigaciones para verificar la variación del contenido de ácidos grasos en el aceite de semilla post estadio E-M3 (maduro) y durante el proceso de germinación, bajo condiciones de oscuridad/luz, temperatura y humedad, controladas.
2. Se recomienda aprovechar la torta completa de semilla de palta por la riqueza de ácidos grasos esenciales y la presencia de fitosteroles, mediante el diseño de suplementos nutricionales con tratamiento térmico moderado como los expandidos y extruidos. El tratamiento térmico elimina el contenido de cianuro presente en la semilla.
3. Se sugiere diseñar productos suplementos nutricionales, como los extruidos afín de aprovechar la presencia de fitosteroles (como, el  $\beta$ -sitosterol) orientado al consumo simultaneo con los alimentos por parte de pacientes hipercolesterolémicos, pues actuando como antinutrientes bloquean la absorción del colesterol procedente de la dieta.



## CAPÍTULO VIII

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Naczki M., Shahidi F. Phenolics in cereals, fruits and vegetables: occurrence, extraction and analysis. *J. Pharm. Biomed. Anal* 2006; 41: 1523–1542.
2. Bergh B, Ellstrand N. Taxonomy of the Avocado. California Avocado Society 1986; 70: 1.
3. Ozdemir F, Topuz A. Changes in dry matter, oil content and fatty acids period. *Food Chemistry* 2004; 86: 79-83.
4. Requejo, AM.*et al.* Influence of nutrition on cognitive function in a group of elderly, independently living people. *European Journal of Clinical Nutrition* 2003; 57: 54–57.
5. Pokorny J. Major factors affecting the autoxidation of lipids. *Autoxidation of Unsaturated Lipids*, Chan H W S (ed). London: Academic Press 1987, 141-206.
6. Simic MG. Free radical mechanism of antioxidation process. *J Chem Educ* 1981; (58): 125-31.
7. Frankel EN. Antioxidants in lipids foods and their impact on food quality. *Food Chemistry* 1996 (57): 51-5.
8. White PJ, Xing Y. Antioxidants from cereals and legumes. *Natural antioxidants. Chemistry Health Effects and applications.* Shahidi F ed. Champaigns Illinois. AOCS Press, 1997, 25-63.
9. Olaeta JA, Schwartz M., P. Undurraga P, Contreras S. Utilización de la semilla de palta (*persea americana* mill.) cv. hass como producto agroindustrial. INTEC-CHILE; 2012.

10. Valenzuela B A, Morgado T N. Las grasas y aceites en la nutrición humana: algo de su historia. *Rev Chil Nutr* 2005; 32(2): 88-94.
11. Harris WS, Mozaffarian D, Rimm E, Kris-Etherton P, Rudel L L, Appel LA et al. Omega-6 Fatty Acids and Risk for Cardiovascular. Disease A Science Advisory From the American Heart Association. Nutrition Subcommittee of the Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism; Council on Cardiovascular Nursing; and Council on Epidemiology and Prevention. *Circulation* 2009; 119: 902-907.
12. Peretta, M. Reingeniería farmacéutica. Principios y protocolos de la atención al paciente. 2ª. Edición. Buenos Aires: Editorial médica panamericana; 2005.
13. Díaz, A. Apuntes metodológicos para la Investigación científica. 1ª. Edición. Huancayo: Universidad Peruana Los Andes; 2010.
14. Del Refugio M, Jerz G, Villanueva S, López-Dellamary F, Waibel R, Winterhalter P. Two glucosylated abscisic acid derivatives from avocado seeds (*Persea americana* Mill. Lauraceae cv. Hass). *Phytochem* 2004; 65(7):955–962.
15. Nwaogu LA, Alisi CS, Ojiako OA. Studies on the nutritional and phytochemical properties of *Persea americana* seed. *Bio-Research* 2008; 6(1):320–322.
16. Takenaga F, Matsuyama K, Abe S, Torii Y, Itoh S. Lipid and fatty acid composition of mesocarp and seed of avocado fruits harvested at northern range in Japan. *J Oleo Sci* 2008; 57(11):591–597.
17. Rodríguez-Carpena JG, Morcuende D, Andrade MJ, Kylli P, Estévez M. Avocado (*Persea americana* Mill.) phenolics, in vitro antioxidant and antimicrobial activities, and inhibition of lipid and protein oxidation in porcine patties. *J Agric Food Chem* 2011, 59(10):5625–5635.
18. Asaolu MF, Asaolu SS, Oyeyemi AO, Aluko BT. Hypolipemic effects of methanolic extract of *Persea americana* seeds in hypercholesterolemic rats. *J Med Medical Sciences* 2010, 1(4):126–128.
19. Imafidon KE, Amaechina FC: Effects of aqueous seed extract of *Persea americana* Mill. (avocado) on blood pressure and lipid profile in hypertensive rats. *Adv Biol Res* 2010, 4(2):116–121.

20. Matsusaka Y, Kawabata J, Takanori K. Antioxidative constituents in avocado (*Persea americana* Mill.) seeds. *J Jap Soc Food Sci Technol* 2003, 50(11):550–552.
21. Yean-Yean S, Barlow PJ. Antioxidant activity and phenolic content of selected fruit seeds. *Food Chem* 2004, 88(3):411–417.
22. Asaolu MF, Asaolu SS, Fakunle JB, Emman-Okon BO, Ajayi EO, Togun RA. Evaluation of in vitro antioxidant activities of methanol extracts of *Persea americana* and *Cnidosculus aconitifolius*. *Pak J Nutr* 2010, 9:1074–1077.
23. Williams LO. The botany of the avocado and its relatives. Proc. 1st international Tropical fruit Short Course, The Avocado. University of Florida, Gainesville, Florida. USA. 1977: 9-15.
24. Turner BL, Miksiek CH. Economic plant species associated with prehistoric agriculture in the Maya lowlands. *Economic Botany* 1984; 38(2): 179-173.
25. Smith CE. Archeological evidence for selection in avocado. *Economic Botany* 1966; 20: 169-175.
26. Barrientos-Priego A, López-López L. Memoria Fundación Salvador Sánchez Colin CICTAMEX S.C. Coatepec Harinas, México; 1998. p. 33.
27. Kopp L. A taxonomic revision of the genus *Persea* in the Western Hemisphere (Perseae-Lauraceae). *Memoirs of the New York Botanical Garden* 1966; 14(1): 1-120.
28. Bergh BO, Torres AM, Zentmyer GA, Ellstrand NC. Allozyme variation in relation to the systematics of *Persea americana* (Lauraceae). Publicación inédita; 1989.
29. Bufler G, Fiedler J. Avocado Genetic Resources: Final Report. GIARA B-14; 1996 July. p. 50.
30. Ben-Ya'acov A, Solis M, Peri E. Progress of the study of avocado genetic resources: The avocado genetic resources in Costa Rica. Program and Book of Abstracts of the World Avocado Congress III; 1995 October 22-27; Tel Aviv, Israel; 1995. p.109.
31. Rojas JM, Peñuela AE, Rocío C.; Aristizábal GE, Chaparro MC. Caracterización de los productos hortofrutícolas colombianos y

- establecimiento de las normas técnicas de calidad. Cenicafe, Chinchina. 2004; 163-178.
32. Mostacero J y Col. Plantas medicinales del Perú: Taxonomía, Ecogeografía, Fenología y Etnobotánica. 1ª. edición. Lima: Fondo editorial de la Asamblea Nacional de Rectores; 2011.
  33. Aguilera J, Salazar S. The avocado industry in Michoacan, México. South African Avocado Growers. Association Yearbook 1991; 14: 94-97.
  34. Ferreyra R, Selles V, Maldonado P, Celedón J, Torres A. Efecto de la macroporosidad y atmósfera del suelo en el estado hídrico del palto. V Congreso Internacional de Ingeniería Agrícola; 2006 Mayo 9 – 12; Universidad de Concepción, Facultad de Ingeniería Agrícola - Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Centro Regional de Investigación Quilamapu, Chillán, Chile; 2006 p. 208.
  35. Whiley AW, Chapman KR, Saranah JB. Water loss by floral structures of avocado (*Persea americana* Mill.) cv. Fuerte during flowering. Aust. J. Agric. Res. 1988; 39:457-467.
  36. Bernal A, Cipriano A. Tecnología para el cultivo de Aguacate. Manual técnico 5 CORPOICA Centro de Investigación la Selva. Ríonegro, Antioquia. 2008; p. 241.
  37. Guerrero T, Nieves B, Barriga F, Aguirre S, Coria V. Recuperación de árboles de aguacate infectados con *Phytophthora cinnamomi* Rands bajo control biológico y químico. Memorias del VII Congreso Mundial del Aguacate. Cairns. Australia; 2011. p. 20-43.
  38. Mejía, A. Cadena Productiva del Aguacate en Colombia. Consejo Nacional del Aguacate. Memorias del II Encuentro de la cadena productiva del aguacate; Ríonegro, Antioquia: Colombia; 2010. p. 1-30.
  39. Noriega LM. Avizoran una sobreproducción de aguacate para 2014. El Sol de Toluca [fecha de acceso 12 de Mayo de 2013]. URL Disponible en: <http://www.oem.com.mx/elsoldetoluca/notas/n2979991.htm>.
  40. Bergh B. Nutritious value of avocado. California. Avocado Society Book. 1992; 123–135.

41. Ozdemir F, Topuz A. Changes in dry matter, oil content and fatty acids composition of avocado during harvesting time and post-harvesting ripening period. *Food Chemistry* 2004; 86: 79-83.
42. Ratovohery J, Lozano Y. Fruit development effect on fatty acid composition of *Persea americana* fruit mesocarp. *J Agric Food Chem* 1988; 36(29): 287-293.
43. Acosta MC. Evaluación y escalamiento del proceso de extracción de aceite de aguacate utilizando tratamiento enzimático. [Tesis de Magister en Ingeniería Química]. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia; 2011.
44. Morton J. Avocado: Fruits of warm climates. Miami: Julia F. Morton; 1987.
45. Howard LR, Clark JR, Brownmiller C. Antioxidant capacity and phenolic content in blueberries as affected by genotype and growing season. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 2003; 83: 1238-1247.
46. Thomas RH, Woods FM, Dozier WA, Ebel RC, Nesbitt M, Wilkins B, *et al.* Cultivar variation in physicochemical and antioxidant activity of Alabama-grown blackberries. *Small Fruits Rev* 2005; 4: 57-71.
47. Acosta MC. Evaluación y escalamiento del proceso de extracción de aceite de aguacate utilizando tratamiento enzimático. [Tesis de maestría no publicada]. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia; 2011.
48. Martínez JL. Supercritical fluid extraction of nutraceuticals and bioactive compounds. New York: Taylor & Francis Group 2008: 440.
49. Restrepo AM, Londoño J, Gonzales D, Benavides Y, Cardona B. Comparación del aceite de aguacate variedad Hass, cultivado en Colombia obtenido mediante fluidos supercríticos y métodos convencionales: una perspectiva desde la calidad. *Revista Lasallista de Investigación* 2012; 9(2): 151-161.
50. García JA, Ramos M, Mora J. Estructura de la semilla de aguacate y cuantificación de la grasa extraída por diferentes técnicas. *Revista Chapingo. Serie horticultura* 2009; 5:123-128.
51. Gonzales ME, Forero F, Sandoval A. Efecto del tratamiento enzimático de la extracción del aceite de aguacate. Ministerio de agricultura de Colombia. Asociación hortofrutícola de Colombia 2010; 2: 1-62.

52. Maza y Silipú, Santos. Estudio de la Palta en el Perú y el mundo. Ministerio de agricultura del Perú. Lima: Dirección general de información agraria; 2008.
53. Berliner JA, Heinecke JW. The role of oxidized lipoproteins in atherogenesis. *Free Radic. Biol. Med* 1996; 20:707-727.
54. Gutteridge JM, Halliwell B. Free radicals and antioxidants in the year 2000 – A historical look to the future. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2000; 899:136-147.
55. Horubala A. Antioxidant capacity and their changes in fruit and vegetables processing. *Przemysl Fermentacyjny Owocowo-Warzywny* 1999; 3, 30–31.
56. Borowska J. Fruits and vegetables as source of natural antioxidants. *Przemysl Fermentacyjny i Owocowo- Warzywny* 2003; 1, 11–12.
57. Kranl K, Schlesier K, Bitsch R, Hermann H, Rohe M, Bohm V. Comparing antioxidative food additives and secondary plants products – use of different assays. *Food Chem* 2005; 93:171-175.
58. Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. Use of free a Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *Lebensmittell-Wissenschaft. Technologie. Food Science and Technology* 1995; 28:25-30.
59. AOAC Official Method of Analysis Association of Official Analytical chemists (1997). 15<sup>th</sup> William Horwits, Washington D.C. EUA.
60. Sánchez H, Reyes C. Metodología y Diseños en la Investigación científica. 1<sup>a</sup> edición. Lima: Editorial Visión Universitaria; 2009.
61. Hernández R, Fernández C, Baptista P. Metodología de la investigación. 4<sup>ta</sup> edición. México: Editorial Mac Graw Hill; 2006.
62. Ceballos A, Montoya S. Evaluación química de la fibra en semilla, pulpa y cáscara de tres variedades de aguacate. *Biotecnología en el sector agropecuario y agroindustrial* 2013 junio; 11(1): 103 - 112.
63. Rosenthal DL, Niranjana K. Aqueous and enzymatic processes edible oil extraction. United Kingdom: University of Reading - Department of Food Science and Technology; 2008.
64. Costa V. Extracción enzimática y caracterización del aceite de palta (Persea americana Mill). Santiago de Chile: Universidad de Chile 2001: 13-15.

65. Jiménez ME, Aguilar R, Zambrano L. Propiedades físicas y químicas del aceite de aguacate obtenido de puré deshidratado por microondas. *Journal of the Mexican Chemical Society* 2001; 45(2): 89-92.
66. Baudi S. *Química de los alimentos*. México: Pearson Educación; 1997.
67. Buelvas G A, Patiño JH, Cano-Salazar JA. Evaluación del proceso de extracción de aceite de aguacate Hass (*Persea americana* Mill) utilizando tratamiento enzimático. *Revista Lasallista de investigación* 2012; 9(2): 138-150.
68. Méndez A, Falqué E. Effect of storage time and container type on the quality of extra virgin olive oil. *Food Control* 2007; 18: 521–529.
69. Rincón, S. Análisis de las propiedades del aceite de palma en el desarrollo de su industria. *PALMAS* 2009; 30(2): 1-23.
70. NORMA MEXICANA. Aceites y grasas. Aceite de aguacate - especificaciones 2008:p.10 (NMX-F-052- SCFI-2008).
71. Ariza A, Valdez LF, Coyotl HJ. Effect of different extraction methods on the fatty acid profile in the avocado (*Persea americana* Mill. Var. Hass). *Revista venezolana de ciencia y tecnología de alimentos* 2011; 2(2): 263-276.
72. Farhoosh R, Einafsha S, Sharayei P. The effect of commercial refining steps on the rancidity measures of soybean and canola oils. *Food Chemistry* 2009; 115: 933-938.
73. Pokorny J, Nedyalka Y, Gordon M. Antioxidantes de los alimentos. Aplicaciones prácticas. 1ª edición. Zaragoza: Editorial Acribia S.A.; 2005.
74. Shahidi F. "Natural antioxidants: a review ". *Natural antioxidants, chemistry, Health Effects, and applications*, Shahidi F Champaign, Illinois, AOAC Press, 1997, 1-11.
75. Silbert LS. Fatty peroxides: synthesis, analysis and reactions. *J Amer Oil Chem Soc* 1962; 39:480-7.
76. Huang SW, Frankel EN, German JB. "Effects of individual tocopherols and tocopherol mixtures on the oxidative stability of corn oil triglycerides" *J Agric Chem* 1995; 43: 2345-50.

77. Rady AH, Madkour MA. Changes in physical and chemical properties of palm olein during heating. Consejo superior de investigaciones científicas. 1995; 46(4): 270-275.
78. Anderson E, Cabrera S, Lozano R, González L. Efecto del consumo de aguacate (*Persea Americana* Mill) sobre el perfil lipídico en adultos con dislipidemia. *Anales Venezolanos de Nutrición* 2009; 22 (2): 84-89.
79. Pahuja M, Ortiz A, Chamorro G, Hernández M, Garduño L, Necochea H, Hernández M. Hypolipidemic Effect of Avocado (*Persea americana* Mill) Seed in a Hypercholesterolemic Mouse Model. *Plant Foods Hum Nutr* 2012; 67:10–16.
80. Ding, H.; et al. Chemopreventive characteristics of avocado fruit. *Seminars in Cancer Biology* 2007; 17(5): 386-394.
81. Wang W, Bostic TR, Gu LW. Antioxidant capacities, procyanidins and pigments in avocados of different strains and cultivars. *Food Chem* 2010; 122(4):1193–1198
82. Soong YY, Barlow PJ. Antioxidant activity and phenolic content of selected fruit seeds. *Food Chem* 2004; 88(3):411–417
83. Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm-Wiss. U-technol* 1995; 28: 25-30.
84. Miller NJ, Rice-Evans CA, Davies MJ. A New Method for Measuring Antioxidant activity. *Biochem Soc Trans* 1993; 21: 95.
85. Gordon M, Magos P. The effect of sterols on the oxidation of edible oils. *Food chem*, 1983; 10: 141-7.



# **ANEXOS**

## ANEXO 1. FOTOGRAFÍAS



Figura 1. Fotografía de la prensa empleada para la obtención de aceite



Figura 2. Fotografía de la balanza analítica empleada para pesar las semillas



Figura 3. Fotografía de paltas maduras cortadas para extraer las semillas



Figura 4. Laboratorio de Bromatología de la U.N.C.P. – Huancayo.



Figura 5. Fotografía del polimorfismo del fruto de *Persea americana* Mill. Var. Hass fuerte



Figura 6. Obtención del fluido bruto mediante expresión en frío



Figura 7. Fotografía del fruto redondeado de *Persea americana* Mill. Var. Hass fuerte



Figura 8. Fotografía de fruto grande y piriforme de *Persea americana* Mill. Var. Hass fuerte



Figura 9. Fruto piriforme y de gran tamaño (17 cm.) y peso (más 600g.)



Figura 10. Fotografía de la inflorescencia de *Persea americana* Mill. Var. Hass fuerte



Figura 11. Fotografía de la flor hexamérica de *Persea americana* Mill. Var. Hass fuerte



Figura 12. Disposición de las flores en la inflorescencia



Figura 13. Fotografías de semillas y cáscaras deshidratadas



Figura 14. Fotografía de la molienda en mortero de las semillas





Figura 15. Fotografía de la recolección de la harina de semilla



Figura 16. Fotografía de la evaluación granulométrica de la harina de semilla



Figura 17. Fotografía del aceite de semilla de palta extraído por el método de Soxhlet

## ANEXO 2. ESTADÍSTICOS: TABLAS Y FIGURAS

Tabla 20. Morfología del fruto, pulpa, semilla y cáscara

	PESO DEL FRUTO (g)	PESO DE LA PULPA (g)	PESO DE LA SEMILLA (g)	PESO DE LA CÁSCARA (g)
N				
Válidos	39	39	39	39
Perdidos	0	0	0	0
Media	509.3328	315.0477	84.0174	112.8346
Moda	373.88 <sup>a</sup>	208.43 <sup>a</sup>	23.10 <sup>a</sup>	67.93 <sup>a</sup>
Desv. típ.	62.34362	42.69568	20.65503	30.69872
Varianza	3886.727	1822.921	426.630	942.412
Mínimo	373.88	208.43	23.10	67.93
Máximo	607.93	383.88	123.07	199.13

Fuente: Elaboración propia, 2013

Tabla 21. Porcentaje de pulpa en paltas de menos de 500 g.

Estadísticos		
PORCENTAJE DE PULPA		
N	Válidos	15
	Perdidos	0
Media		63.3580
Moda		64.16
Desv. típ.		4.44566
Mínimo		54.76
Máximo		68.82
Percentiles	25	57.4600
	50	64.7900
	75	66.6000

Fuente: Elaboración propia, 2013

Tabla 22. Análisis bivariable entre el peso del fruto y el porcentaje de pulpa en paltas de menos de 500 g.

Correlaciones			
		PESO DEL FRUTO	PORCENTAJE DE PULPA
PESO DEL FRUTO	Correlación de Pearson	1	-.059
	Sig. (bilateral)		.836
	N	15	15
PORCENTAJE DE PULPA	Correlación de Pearson	-.059	1
	Sig. (bilateral)	.836	
	N	15	15

Fuente: Elaboración propia, 2013

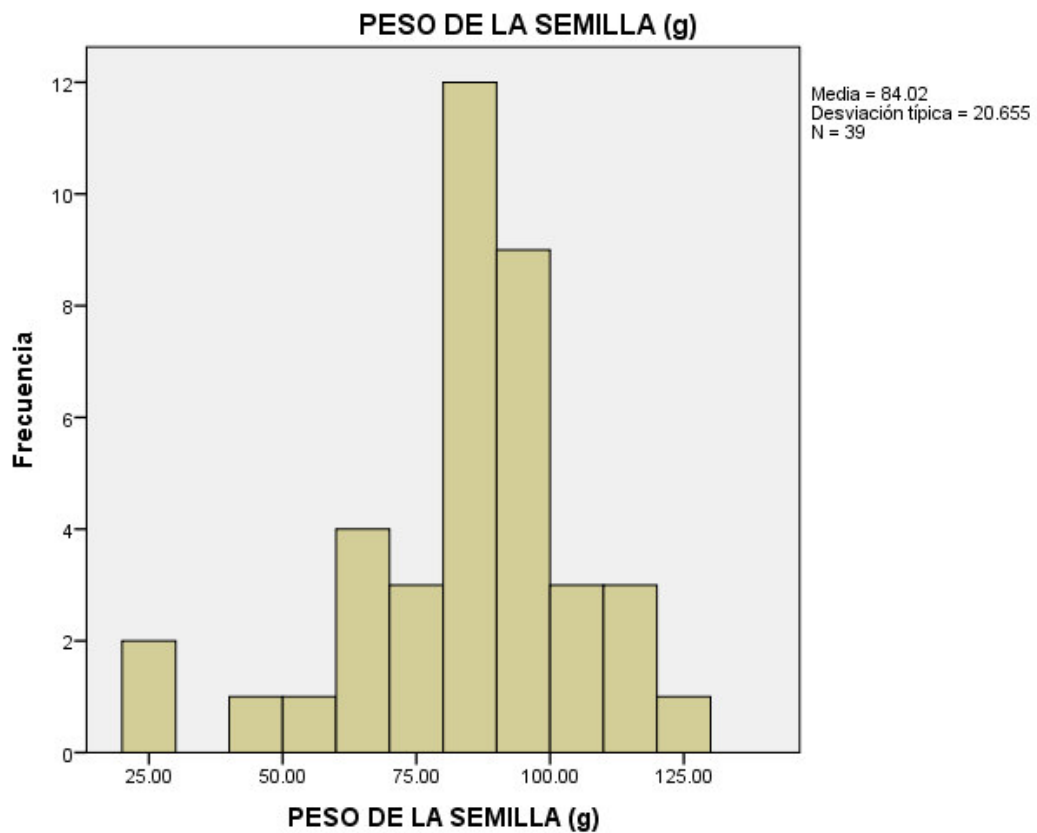


Figura 18. Gráfico de frecuencias de pesos de la semilla

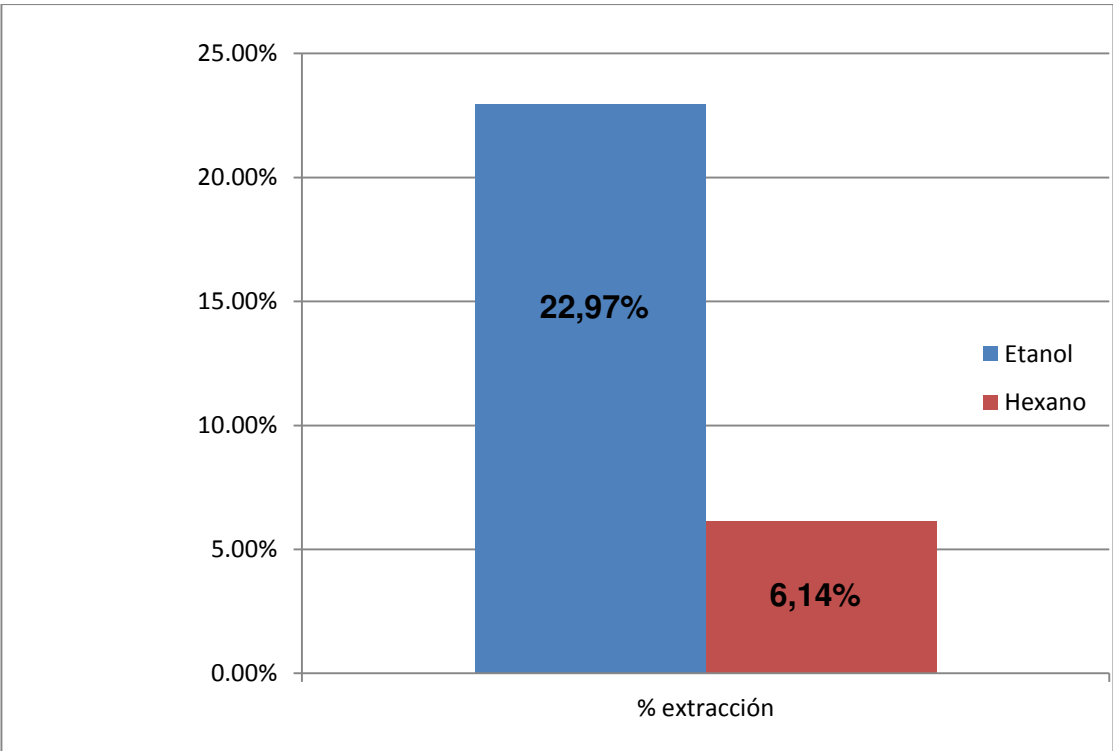


Figura 19. Rendimiento de la extracción del aceite de semilla de palta.



Figura 20. Composición química proximal de la semilla de palta

Tabla 23. Análisis estadístico bivariable entre el tiempo de almacenamiento y estabilidad del aceite (% de acidez – ácido oleico).

		Medidas simétricas			
		Valor	Error típ. asint. <sup>a</sup>	T aproximada <sup>b</sup>	Sig. aproximada
Nominal por nominal	Coeficiente de contingencia	,943			,230
Intervalo por intervalo	R de Pearson	,967	,009	10,088	,000 <sup>c</sup>
Ordinal por ordinal	Correlación de Spearman	,983	,031	14,310	,000 <sup>c</sup>
N de casos válidos		9			

a. Asumiendo la hipótesis alternativa.

b. Empleando el error típico asintótico basado en la hipótesis nula.

c. Basada en la aproximación normal.

Tabla 24. Análisis estadístico bivariable entre el tiempo de almacenamiento y estabilidad del aceite (% de acidez – ácido oleico).

	Resumen del procesamiento de los casos					
	Casos					
	Válidos		Perdidos		Total	
	N	Porcentaje	N	Porcentaje	N	Porcentaje
TIEMPO DE ALMACENAMIENTO (DÍAS) * ESTABILIDAD DEL ACEITE (% ACIDEZ A. OLEICO)	9	100,0%	0	0,0%	9	100,0%

Tabla 25. Análisis estadístico bivariable entre el tiempo de almacenamiento y estabilidad del aceite (Índice de Peróxido).

Resumen del procesamiento de los casos						
	Casos					
	Válidos		Perdidos		Total	
	N	Porcentaje	N	Porcentaje	N	Porcentaje
TIEMPO DE ALMACENAMIENTO (DÍAS) * ESTABILIDAD DEL ACEITE (INDICE DE PERÓXIDO)	9	100,0%	0	0,0%	9	100,0%

Tabla 26. Análisis estadístico bivariable entre el tiempo de almacenamiento y estabilidad del aceite (Índice de Peróxido).

Medidas simétricas					
		Valor	Error típ. asint. <sup>a</sup>	T aproximada <sup>b</sup>	Sig. aproximada
Nominal por nominal	Coefficiente de contingencia	,935			,243
Intervalo por intervalo	R de Pearson	,864	,061	4,548	,003 <sup>c</sup>
Ordinal por ordinal	Correlación de Spearman	,979	,030	12,733	,000 <sup>c</sup>
N de casos válidos		9			

a. Asumiendo la hipótesis alternativa.

b. Empleando el error típico asintótico basado en la hipótesis nula.

c. Basada en la aproximación normal.

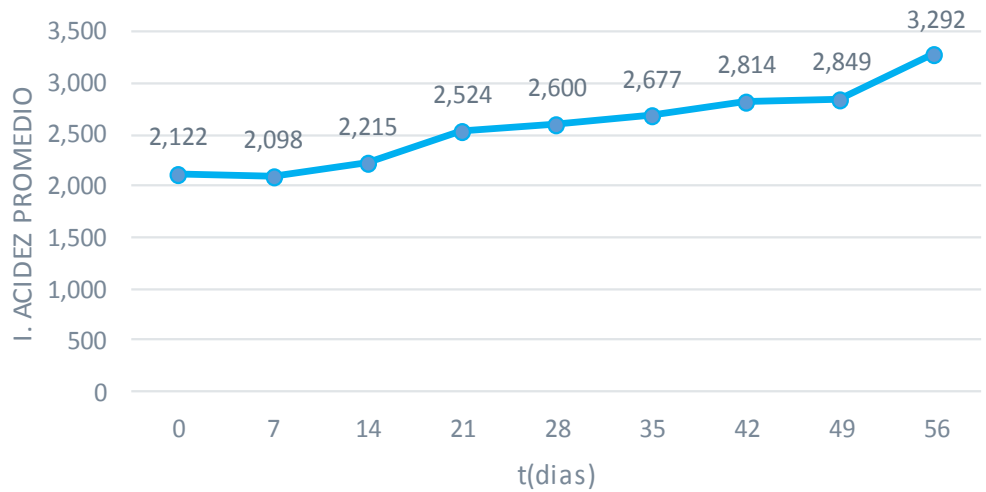


Figura 21. Gráfico de estabilidad del aceite de semilla de palta en relación al índice de acidez durante su almacenamiento por 56 días

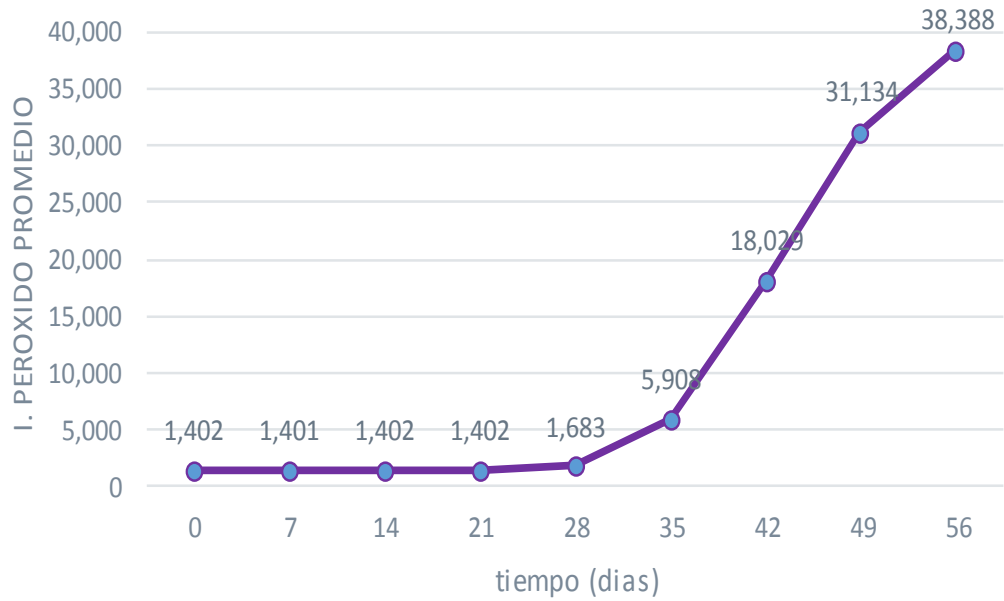


Figura 22. Gráfico de estabilidad del aceite de semilla de palta en relación al índice de peróxidos durante su almacenamiento por 56 días



Tabla 27. Actividad antioxidante de la vitamina E ( $\alpha$ -Tocoferol)

Concentración de Patrón (Vitamina E) mg/kg	Absorbancia Patrón Promedio	Porcentaje de Inhibición promedio
100	0,820	7,7615
250	0,744	16,3105
500	0,612	31,1586
750	0,497	44,0945
1000	0,378	57,4803
1500	0,144	83,8020
2000	0,018	97,9378

Fuente: Elaboración propia, 2013

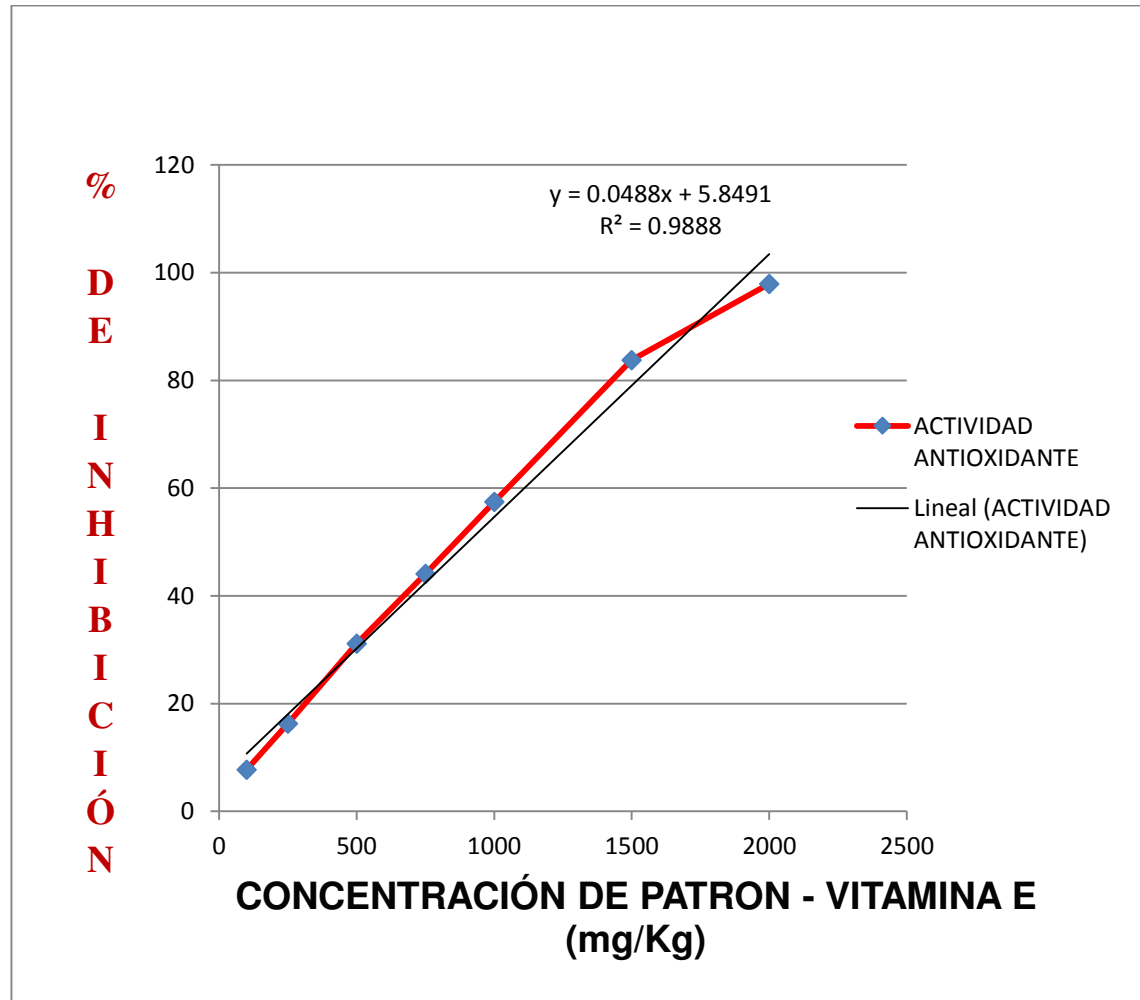


Figura 23. Evaluación de la actividad antioxidante del patrón de vitamina E ( $\alpha$ -Tocoferol)

Tabla 28. Actividad antioxidante del aceite de semilla de palta

Concentración de Patrón (Vitamina E) mg/kg	Absorbancia Patrón Promedio	Porcentaje de Inhibición promedio
100	0,860	3,2621
250	0,796	10,4237
500	0,688	22,6097
750	0,579	34,9081
1000	0,441	50,3937
1500	0,208	76,6029
2000	0,046	94,8256

Fuente: Elaboración propia, 2013.

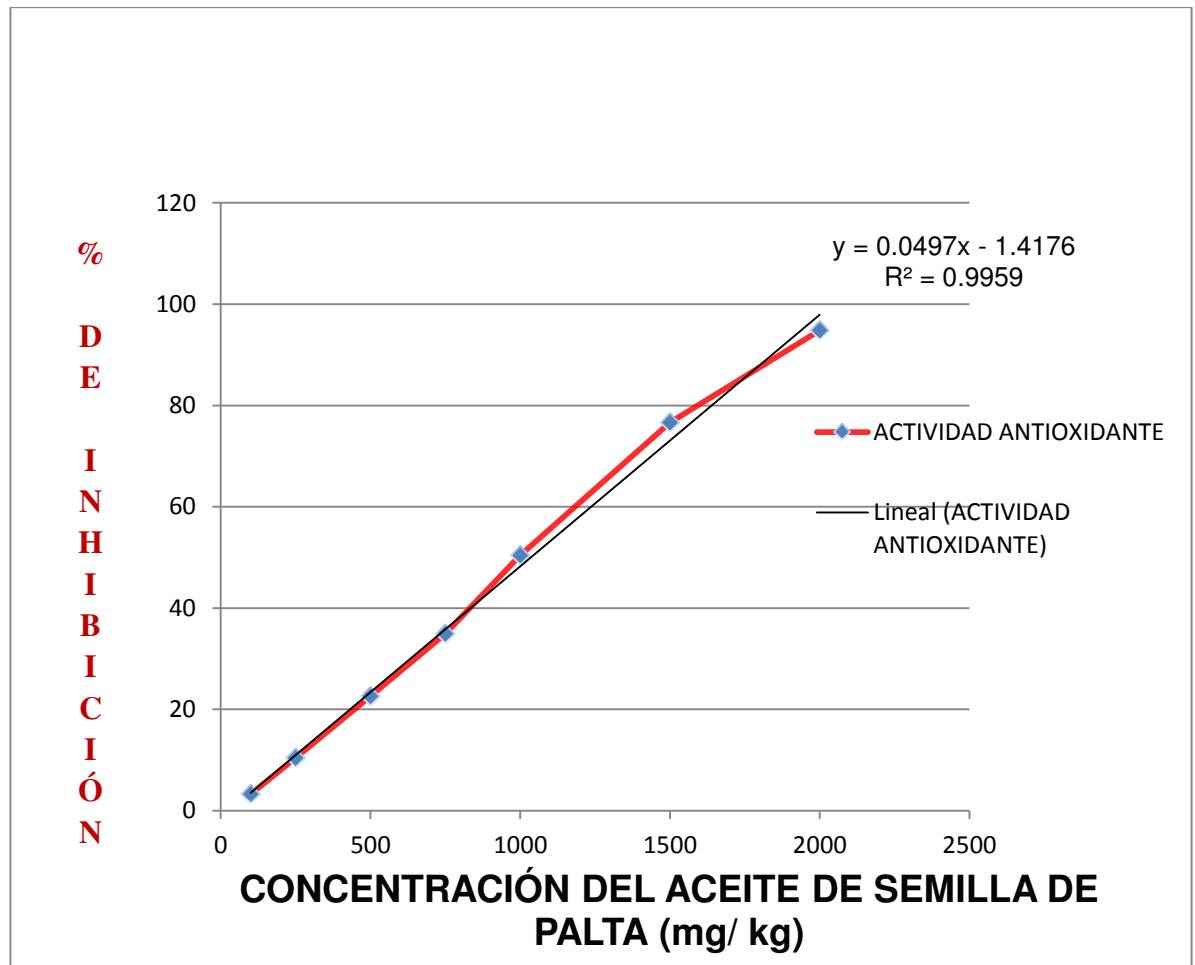


Figura 24. Gráfico de evaluación de la actividad antioxidante del aceite de semilla de palta.

## **ANEXO 3. DOCUMENTOS, PROTOCOLOS Y OTROS**

### **DISTRITO DE PARIAHUANCA**

El distrito se encuentra localizado en dirección noreste de la provincia de Huancayo en la Región Junín. Su capital es el poblado de Lampa. Su población actual es de 10000 habitantes. Dista a 83 km. de la ciudad de Huancayo.

La localización exacta es: 12° 01' 15" latitud sur y 74° 50' 30" longitud oeste. Tiene un área de 617.50 km<sup>2</sup>, lo que representa un 13.11 % del área total de la superficie de la provincia de Huancayo, que incluye 28 distritos.

El distrito presenta centros poblados con altitudes y climas variados. Es así como, el Poblado de Pariahuanca se encuentra ubicado a 1600 m.s.n.m. en la confluencia de los ríos Mantaro y Pariahuanca, con un clima cálido seco y temperaturas de 16 a 25 °C en el otro extremo se encuentra el poblado de Llacsapirca, ubicado a 4875 m.s.n.m., tiene un clima intensamente frío con temperaturas de 0 a 10 °C.

#### **Reseña histórica**

Pariahuanca, pertenecía a la nación Huanca (Hanan Huanca), cuando fue conquistada por el inca Cápac Yupanqui aproximadamente el año 1463, mediante la persuasión y no el uso de las armas por parte del inca. Durante la conquista Pariahuanca a sus compueblanos con posiciones divididas, algunos apoyaban a los conquistadores y otros a las huestes cuzqueñas. Después de la conquista española Pariahuanca era visitada por exploradores de metales y cazadores de animales silvestres como: osos, pumas, venados entre otros.; así como por recolectores de frutas, entre las que destacaban la chirimoya, lúcuma, durazno, plátano, manchay, etc.

Al crearse la provincia de Huancayo el 16 de noviembre de 1864, Pariahuanca se incorpora a ella en calidad de distrito, dejando de pertenecer a la provincia de Jauja. Durante la Guerra con Chile los pobladores fueron asolados por el ejército invasor. Posteriormente, en la década del 70, los terratenientes se replegaron ante las empresas asociativas impuesto por la Reforma agraria del Presidente Juan Velasco. En la década de los 80 sus empresas fueron violentadas por la subversión del MRTA (Movimiento Revolucionario Túpac Amaru) y Sendero luminoso.



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS  
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA  
MUSEO DE HISTORIA NATURAL



"Año de la Inversión para el Desarrollo Rural y la Seguridad Alimentaria"

**CONSTANCIA N° 59-USM-2013**

LA JEFA DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (Hojas y fruto), recibida de **Pedro Gonzalo RENGIFO GRATELLI**, de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos; ha sido estudiada y clasificada como: ***Persea americana* Miller** y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988):

**DIVISION: MAGNOLIOPHYTA**

**CLASE: MAGNOLIOPSIDA**

**SUBCLASE: MAGNOLIIDAE**

**ORDEN: LAURALES**

**FAMILIA: LAURACEAE**

**GENERO: *Persea***

**ESPECIE: *Persea americana* Miller**

Nombre vulgar: "Palta fuerte".  
Determinado por: Dra. Haydeé Montoya.

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para fines de estudios.

Fecha, 01 de abril de 2013



*Haydeé Montoya*  
**Dra. HAYDEE MONTOYA TERREROS**  
JEFA DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)  
JEFE



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)

FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

CENPROFARMA

CENTRO DE CONTROL ANALÍTICO



### PROTOCOLO DE ANÁLISIS N.º 00372-CPF-2013

ORDEN DE ANÁLISIS : 002036/2013  
SOLICITADO POR : PEDRO RENGIFO GHATELLI  
DIRECCIÓN : -----  
MUESTRA : EXTRACTO ETANÓLICO DE SEMILLAS DE PALTA  
CANTIDAD : 01 Frasco de vidrio x 250 mL.  
FECHA DE RECEPCIÓN : 18 de Junio del 2013

TAMIZAJE FITOQUÍMICO PRELIMINAR				
ANALITO		RESULTADOS		
ALCALOIDE		-		
AZÚCARES		-		
QUINONAS		+		
TRITERPENOS Y ESTEROIDES		+++		
LACTONAS		+		
SAPONINAS		-		
COMPUESTO FENÓLICOS		+		
TANINOS		-		
AMINOÁCIDOS LIBRES		+		
FLAVONOIDES		+		
QUINONAS		++		
COMPUESTOS LACTONICOS		+		
GLICOSIDOS		-		
LEYENDA	(+) Trazas.	(++) Cantidad Moderada	(+++) Cantidad Abundante.	(-) No detectable

Lima, 20 de Agosto del 2013

*Maria Elena Salazar*

Mg. María Elena Salazar Salvatierra  
Directora del Centro de Control Analítico

FCCA-009

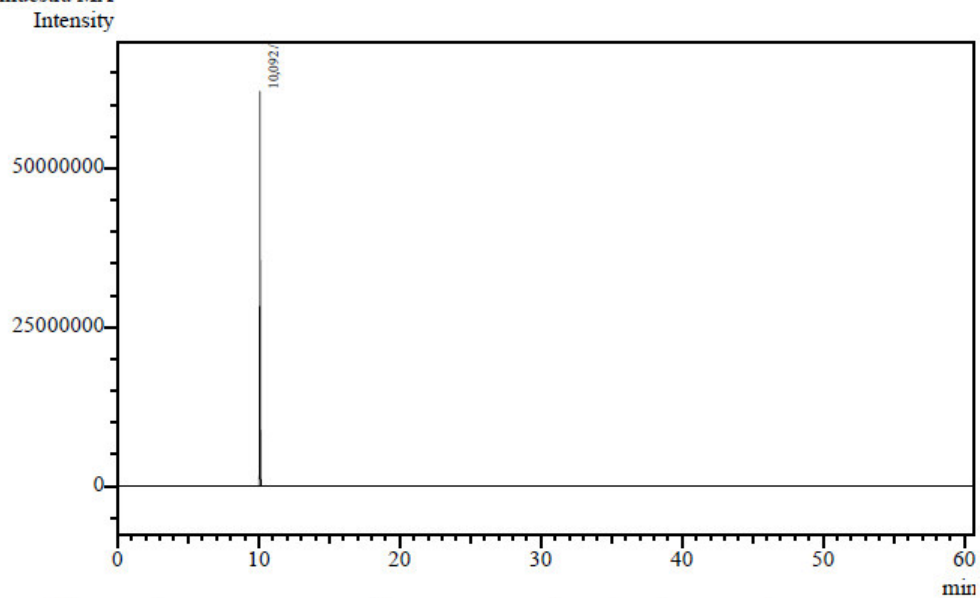


"FARMACIA ES LA PROFESIÓN DEL MEDICAMENTO DEL ALIMENTO Y DEL TÓXICO"

Jr. Puno N° 1002, Jardín Botánico - Lima 1 - Perú - Telf.: (511) 328-4737 Anexo 18 - Telf. (511) 328-7398 - Ap. Postal 1760 - Lima 1  
E-mail: cca@unmsm.edu.pe <http://www.unmsm.edu.pe/farmacia>

Analysis Date & Time : 14/03/2013 10:54:44  
User Name : Admin  
Vial# : 3  
Sample Name : MA 14.03.13  
Sample ID : MA 14.03.13  
Sample Type : Unknown  
Injection Volume : 1,00  
ISTD Amount :

Data Name : C:\WINDOWS\Data\Project1\FAMES\MA14.03.13.gcd  
Method Name : C:\WINDOWS\Data\Project1\FAMES\Metodo FAMES AOAC 991.39 (Rt-2560).gcm  
[Description]  
muestra MA



Peak#	Ret.Time	Area	Height	Conc.	Unit Mark	ID#	Cmpd Name
1	10.092	160814997	61884182	0.000			
Total		160814997	61884182				

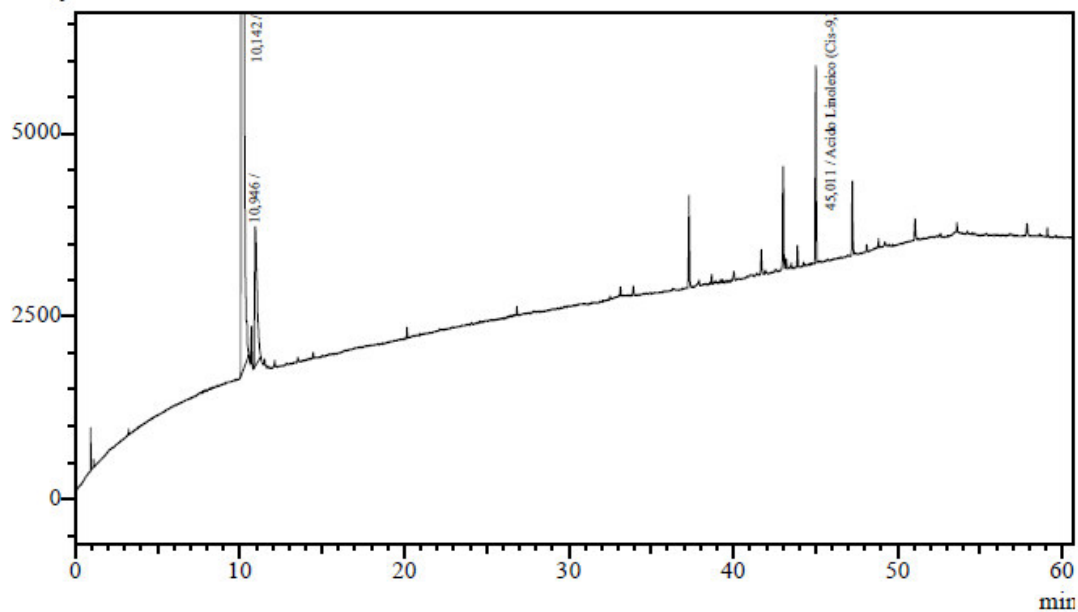
Figura 25. Primer cromatograma de gases del perfil lipídico de ácidos grasos en el aceite de semilla de palta.

Analysis Date & Time : 14/03/2013 8:08:41  
 User Name : Admin  
 Vial# : 1  
 Sample Name : ME 14.03.13  
 Sample ID : ME 14.03.13  
 Sample Type : Unknown  
 Injection Volume : 1,00  
 ISTD Amount :

Data Name : C:\WINDOWS\Data\Project1\FAMES\ME 14.03.13.gcd  
 Method Name : C:\WINDOWS\Data\Project1\FAMES\Metodo FAMES AOAC 991.39 (Rt-2560).gcm

[Description]  
muestra ME

Intensity

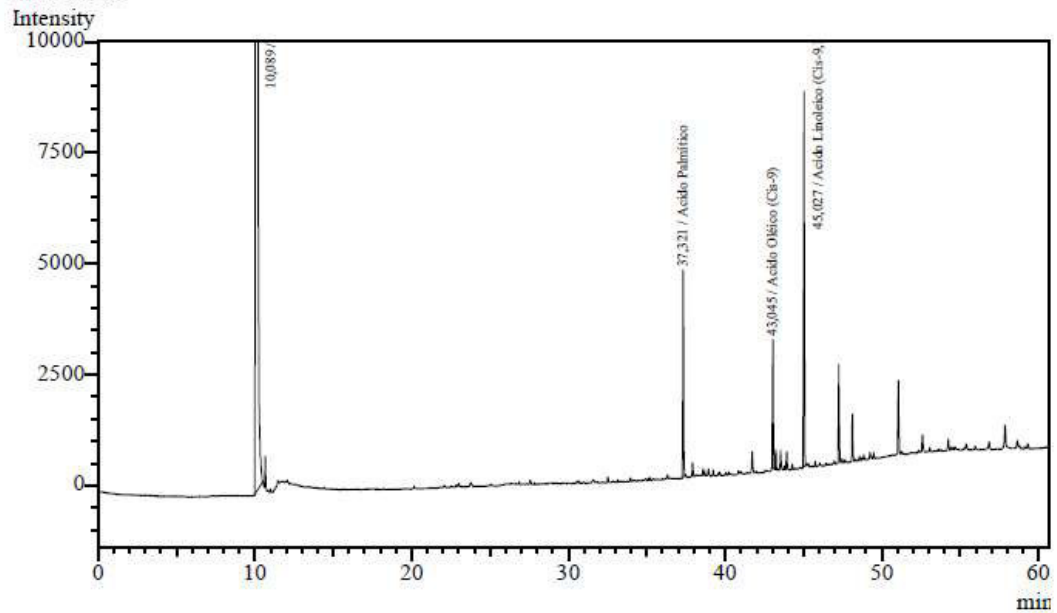


Peak#	Ret.Time	Area	Height	Conc.	Unit	Mark	ID#	Cmpd Name
1	10,142	152730229	62045729	0,000		S		
2	10,946	19467	1903	0,000				
3	45,011	10350	2688	100,000	%		18	Acido Linoleico (Cis-9)
<b>Total</b>		152760046	62050320					

Figura 26. Segundo cromatograma de gases del perfil lipídico de ácidos grasos en el aceite de semilla de palta.

Analysis Date & Time : 14/03/2013 11:59:32  
 User Name : Admin  
 Vial# : 4  
 Sample Name : MF14.03.13  
 Sample ID : MF 14.03.13  
 Sample Type : Unknown  
 Injection Volume : 1,00  
 ISTD Amount :

Data Name : C:\WINDOWS\Data\Project1\FAMES\MF14.03.13.gcd  
 Method Name : C:\WINDOWS\Data\Project1\FAMES\Metodo FAMES AOAC 991.39 (Rt-2560).gcm  
 [Description]  
 muestra MF



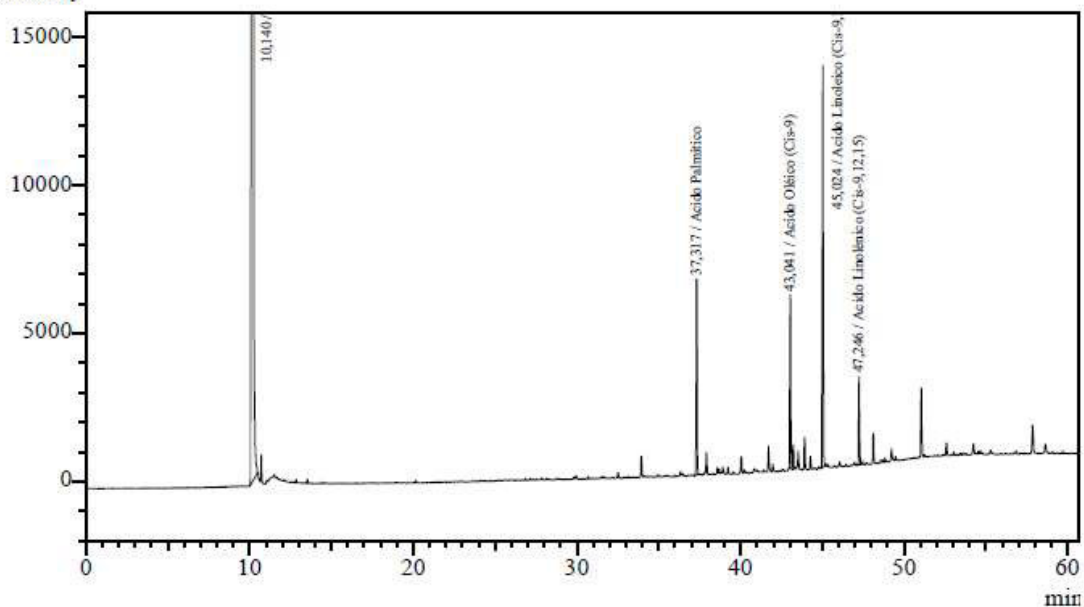
Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.	Unit Mark	ID#	Cmpd Name
1	10,089	161482265	66082962	0,000			
2	37,321	17613	4642	27,304	%	11	Acido Palmítico
3	43,045	10895	2903	16,526	%	16	Acido Oléico (Cis-9)
4	45,027	32413	8439	56,170	%	18	Acido Linoleico (Cis-9)
<b>Total</b>		161543186	66098946				

Figura 27. Tercer cromatograma de gases del perfil lipídico de ácidos grasos en el aceite de semilla de palta.



Analysis Date & Time : 14/03/2013 9:49:58  
 User Name : Admin  
 Vial# : 2  
 Sample Name : MA 14.03.13  
 Sample ID : MA 14.03.13  
 Sample Type : Unknown  
 Injection Volume : 1,00  
 ISTD Amount :

Data Name : C:\WINDOWS\Data\Project1\FAMES\MS14.03.13.gcd  
 Method Name : C:\WINDOWS\Data\Project1\FAMES\Metodo FAMES AOAC 991.39 (Rt-2560).gcm  
 [Description]  
 muestra MA  
 Intensity



Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.	Unit Mark	ID#	Cmpd Name
1	10,140	149470900	61306895	0,000			
2	37,317	25150	6603	20,963 %		11	Acido Palmítico
3	43,041	22193	5826	18,099 %		16	Acido Oléico (Cis-9)
4	45,024	52340	13512	48,766 %		18	Acido Linoleico (Cis-9)
5	47,246	11476	2963	12,171 %		21	Acido Linolénico (Cis-9,12,15)
<b>Total</b>		<b>149582059</b>	<b>61335799</b>				

Figura 28. Cuarto cromatograma de gases del perfil lipídico de ácidos grasos en el aceite de semilla de palta.

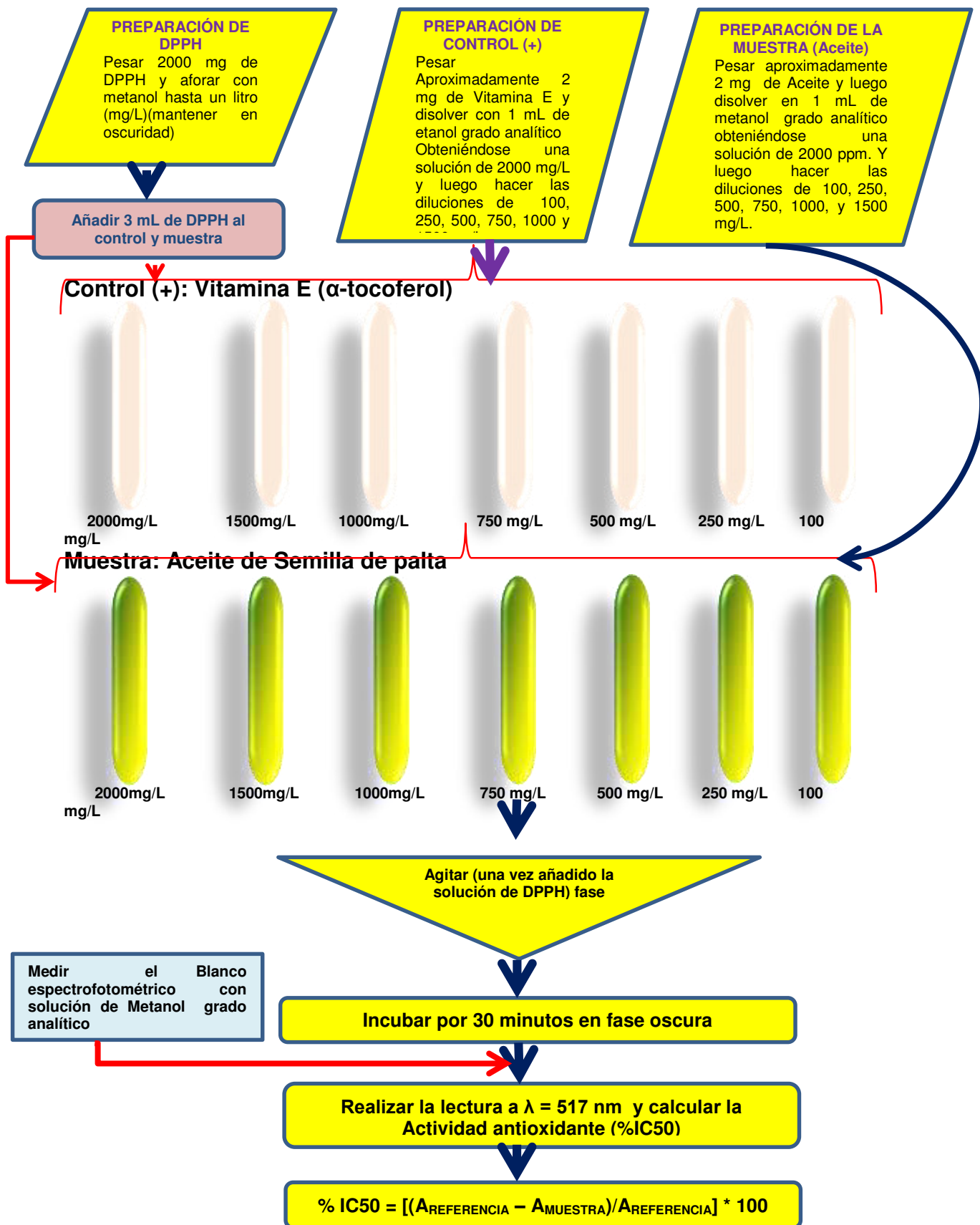


Figura 29. Esquema del Método espectrofotométrico del DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazilo) para la evaluación de la actividad antioxidante. (BRAND-WILLIAMS, y CUVÉLIER y BERSET (1995); MOLYNEUX (2004))

## **PROTOCOLO DE METODOLOGIA UTILIZADA PARA LA CARACTERIZACION DEL ACEITE DE SEMILLA DE PALTA**

Según la American Oil Chemists' Society (AOCS) y la Association of Official Agricultural Chemists (AOAC)

- Humedad (método AOAC-90 965-33)
- Índice de acidez (método AOCS-94 Cd 3a-63)
- Índice de lodo (método AOAC-90 920-159)
- Índice de peróxido (método AOAC-90 965-33)
- Índice de saponificación (método AOAC-90920-160)
- Índice de refracción (método AOAC-90 921-08-c)
- Densidad (método AOAC-90 920-212)
- Color (método AOCS-94 Td 2a-64)
- Viscosidad (método AOCS-94 Tq 1a-64)
- Ácidos grasos (método AOAC-90 956-04)