



**UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS
CARRERA: QUÍMICA Y FARMACIA**



**TRABAJO DE TITULACIÓN PRESENTADO COMO REQUISITO
PREVIO PARA OPTAR AL GRADO DE QUÍMICOS Y
FARMACÉUTICOS**

**“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LA SEMILLA
DE AGUACATE (*Persea americana Mill*) VARIEDAD Hass A TRAVÉS
DEL MÉTODO DPPH”**

AUTORES:

COELLO RUGEL JOSEPH NAHIN
SALTOS MICHILENA MARIA ANGÉLICA

TUTOR:

QF. DANILO BARROS SALAZAR. Mgs.

GUAYAQUIL – ECUADOR

2020



**UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL
CARRERA: QUÍMICA Y FARMACIA
UNIDAD DE TITULACIÓN**



**Presidencia
de la República
del Ecuador**



**Plan Nacional
de Ciencia, Tecnología,
Innovación y Saberes**



SENESCYT
SECRETARÍA NACIONAL DE EDUCACIÓN SUPERIOR,
CIENCIA, TECNOLOGÍA E INNOVACIÓN

REPOSITORIO NACIONAL EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA

FICHA DE REGISTRO DE TRABAJO DE TITULACIÓN

TÍTULO Y SUBTÍTULO:	"Evaluación de la actividad antioxidante de la semilla de aguacate (<i>Persea americana Mill</i>) variedad <i>Hass</i> a través del método DPPH"		
AUTOR(ES) (apellidos/nombres):	COELLO RUGEL JOSEPH NAHIN SALTOS MICHILENA MARÍA ANGELICA		
REVISOR(ES)/TUTOR(ES) (apellidos/nombres):	Q.F. BARROS DANILO SALAZAR Mgs (TUTOR) Q.F. SOLEDISPA PILAR CAÑARTE M.Sc(TUTORA REVISORA)		
INSTITUCIÓN:	UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL		
UNIDAD/FACULTAD:	CIENCIAS QUÍMICAS		
MAESTRÍA/ESPECIALIDAD:			
GRADO OBTENIDO:	TERCER NIVEL- QUÍMICO FARMACÉUTICO		
FECHA DE PUBLICACIÓN:	2020	No. DE PÁGINAS:	66
ÁREAS TEMÁTICAS:	CIENCIAS BÁSICA Y BIOCONOCIMIENTO		
PALABRAS CLAVES/ KEYWORDS:	Actividad antioxidante, semillas <i>Persea americana Mill</i> , parámetros de calidad		
RESUMEN/ABSTRACT (150-250 palabras):	<p><i>Persea americana Mill</i> conocida comúnmente como aguacate, esta planta es conocida por su amplio consumo y a su vez presenta un alto poder antioxidante que ayuda a inhibir la degradación oxidativa. El presente trabajo tiene como objetivo evaluar actividad antioxidante de las semillas de aguacate (<i>Persea americana Mill</i>) variedad <i>Hass</i>. En esta investigación se utilizaron las semillas, las cuales después de la recolección fueron secadas en estufa a una temperatura de 60°C, molidas y almacenadas en un ambiente fresco y protegido de la luz, hasta su empleo. Se realizó un análisis fisicoquímico al extracto evidenciando un porcentaje de Humedad de (12,2364%), cenizas totales (5,25%), cenizas insolubles en agua (2,8%), cenizas insolubles en ácido (1,14%); el último análisis realizado al extracto fue el de la actividad antioxidante mediante la reducción del 2,2 difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH), en esta técnica se utilizó medidas en microlitros del extracto, obteniendo en 2 uL un porcentaje de inhibición del 88,15%, en 20 uL un porcentaje de inhibición del 92,38% y en el de 160 uL un porcentaje de inhibición del 93,08%, por lo contrario en el extracto etanólico se obtuvo en 2 uL un porcentaje de inhibición del 7,98%, en 20 uL, un porcentaje de inhibición del 16,27% y en el de 160 uL un porcentaje de inhibición del 46,72%.por lo tanto, se concluye que el extracto acuoso es aquel que presentó mayor porcentaje de inhibición para actividad antioxidante.</p>		
ADJUNTO PDF:	SI <input checked="" type="checkbox"/>	NO	
CONTACTO CON AUTOR/ES:	Teléfono: 0960921338 0968123499	E-mail: joseph.coellor@ug.edu.ec maria,saltosm@ug.edu.ec	
CONTACTO CON LA INSTITUCIÓN:	Nombre: SEDE CIENCIAS QUIMICAS		
	Teléfono: (04) 2-293680		
	E-mail:fcquimic@ug.edu.ec		



**UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL
CARRERA: QUÍMICA Y FARMACIA
UNIDAD DE TITULACIÓN**



ANEXO VI. - CERTIFICADO DEL DOCENTE-TUTOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Guayaquil, 4 de Octubre del 2020

Dra. Q.F. ZOILA BELLA LUNA ESTRELLA Mgs.
VICEDECANA DE LA CARRERA QUÍMICA Y FARMACIA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL
Ciudad. – Guayaquil

De mis consideraciones:

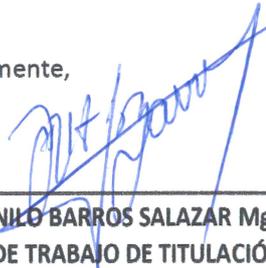
Envío a Ud. el Informe correspondiente a la tutoría realizada al Trabajo de Titulación **“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LA SEMILLA DE AGUACATE (*Persea americana Mill*) VARIEDAD Hass A TRAVÉS DEL MÉTODO DPPH”** los estudiantes **COELLO RUGEL JOSEPH NAHIN** con C.I. No. **0929452142** y **SALTOS MICHILENA MARIA ANGELICA** con C.I. No. **0202356101**, indicando que ha(n) cumplido con todos los parámetros establecidos en la normativa vigente:

- El trabajo es el resultado de una investigación.
- El estudiante demuestra conocimiento profesional integral.
- El trabajo presenta una propuesta en el área de conocimiento.
- El nivel de argumentación es coherente con el campo de conocimiento.

Adicionalmente, se adjunta el certificado de porcentaje de similitud y la valoración del trabajo de titulación con la respectiva calificación.

Dando por concluida esta tutoría de trabajo de titulación, **CERTIFICO**, para los fines pertinentes, que el (los) estudiante (s) está (n) apto (s) para continuar con el proceso de revisión final.

Atentamente,



Q.F. DANILO BARROS SALAZAR Mgs.
TUTOR DE TRABAJO DE TITULACIÓN
C.I. 0907792519

FECHA: 4 de Octubre del 2020



**UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL
CARRERA: QUÍMICA Y FARMACIA
UNIDAD DE TITULACIÓN**



ANEXO VIII.- INFORME DEL DOCENTE REVISOR

Guayaquil, 13 de Octubre del 2020

Dra. Q.F. ZOILA BELLA LUNA ESTRELLA Mgs.
VICEDECANA FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL

De mis consideraciones:

Envío a Ud. el Informe correspondiente a la tutoría realizada al Trabajo de Titulación "EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LA SEMILLA DE AGUACATE (*Persea americana Mill*) VARIEDAD *Hass* A TRAVÉS DEL MÉTODO DPPH" de los estudiantes COELLO RUGEL JOSEPH NAHIN con C.I. No. 0929452142 y SALTOS MICHILENA MARIA ANGELICA con C.I. No. 0202356101. Las gestiones realizadas me permiten indicar que el trabajo fue revisado considerando todos los parámetros establecidos en las normativas vigentes, en el cumplimiento de los siguientes aspectos:

Cumplimiento de requisitos de forma:

- El título tiene un máximo de 20 palabras.
- La memoria escrita se ajusta a la estructura establecida.
- El documento se ajusta a las normas de escritura científica seleccionadas por la Facultad.
- La investigación es pertinente con la línea y sublíneas de investigación de la carrera.
- Los soportes teóricos son de máximo 5 años.
- La propuesta presentada es pertinente.

Cumplimiento con el Reglamento de Régimen Académico:

- El trabajo es el resultado de una investigación.
- El estudiante demuestra conocimiento profesional integral.
- El trabajo presenta una propuesta en el área de conocimiento.
- El nivel de argumentación es coherente con el campo de conocimiento.

Adicionalmente, se indica que fue revisado, el certificado de porcentaje de similitud, la valoración del tutor, así como de las páginas preliminares solicitadas, lo cual indica que el trabajo de investigación cumple con los requisitos exigidos.

Una vez concluida esta revisión, considero que los estudiantes están aptos para continuar el proceso de titulación. Particular que comunicamos a usted para los fines pertinentes.

Atentamente,

Q.F. PILAR SOLEDISPA CAÑARTE M.Sc
DOCENTE TUTOR REVISOR
C.I. 0909244352
FECHA: 13 de Octubre del 2020



**UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL
CARRERA: QUÍMICA Y FARMACIA
UNIDAD DE TITULACIÓN**



ANEXO VII.- CERTIFICADO PORCENTAJE DE SIMILITUD

Habiendo sido nombrado **Q.F. DANILO VICENTE BARROS SALAZAR Mgs**, tutor del trabajo de titulación certifico que el presente trabajo de titulación ha sido elaborado por **COELLO RUGEL JOSEPH NAHIN** con C.I. No. **0929452142** y **SALTOS MICHILENA MARIA ANGELICA** con C.I. No. **0202356101**, con mi respectiva supervisión como requerimiento parcial para la obtención del título de **QUÍMICO FARMACÉUTICO**.

Se informa que el trabajo de titulación: **"EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LA SEMILLA DE AGUACATE (*Persea americana Mill*) VARIEDAD Hass A TRAVÉS DEL MÉTODO DPPH"**, ha sido orientado durante todo el periodo de ejecución en el programa antiplagio **URKUND**, quedando el **2 %** de coincidencia.

Q.F. DANILO BARROS SALAZAR Mgs
TUTOR DE TRABAJO DE TITULACIÓN
C.I. 0907792519



UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL
CARRERA: QUÍMICA Y FARMACIA
UNIDAD DE TITULACIÓN



URKUND

Urkund Analysis Result

Analysed Document: EVALUACION DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE LA SEMILLA
Persea americana Mill variedad Hass A TRAVES DEL METODO
DPPH.pdf (D80671408)

Submitted: 10/4/2020 10:31:00 PM

Submitted By: danilo.barross@ug.edu.ec

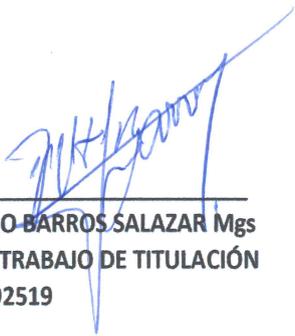
Significance: 2 %

Sources included in the report:

TESIS-1-LISS-Y-SILVANA.docx (D64985081)
Alexandra Aymacaña Albán Cascara aguacate 2018-10-05.docx (D42192473)

Instances where selected sources appear:

3


Q.F. DANILO BARROS SALAZAR Mgs
TUTOR DE TRABAJO DE TITULACIÓN
C.I. 0907792519





**UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL
CARRERA: QUÍMICA Y FARMACIA
UNIDAD DE TITULACIÓN**



Guayaquil, 04 de octubre del 2020.

APROBACIÓN DEL TUTOR

En calidad de tutora del Trabajo de Titulación, Certifico: Que he asesorado, guiado y revisado el trabajo de titulación en la modalidad de investigación, cuyo título es: **“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LA SEMILLA DE AGUACATE (*Persea americana Mill*) VARIEDAD Hass A TRAVÉS DEL MÉTODO DPPH”**, presentado por **COELLO RUGEL JOSEPH NAHIN** con C.I. No. **0929452142** y **SALTOS MICHILENA MARIA ANGELICA** con C.I. No. **0202356101** y previo a la obtención del título de Químicos Farmacéuticos.

Este trabajo ha sido aprobado en su totalidad y se adjunta el informe de Antiplagio del programa URKUND, quedando el 2 % de coincidencia. Lo Certifico:

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "Danilo Barros Salazar", written over a horizontal line.

**Q.F. DANILO BARROS SALAZAR Mgs
TUTOR DE TRABAJO DE TITULACIÓN
C.I. 0907792519**

FECHA: 04 de Octubre del 2020



**UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL
CARRERA: QUÍMICA Y FARMACIA
UNIDAD DE TITULACIÓN**



Guayaquil, 13 de octubre del 2020.

APROBACIÓN DEL TUTOR REVISOR

Habiendo sido nombrada **Q.F.PILAR SOLEDISPA CAÑARTE M.Sc** tutora revisora del trabajo de titulación cuyo título es: **"EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LA SEMILLA DE AGUACATE (*Persea americana Mill*) VARIEDAD Hass A TRAVÉS DEL MÉTODO DPPH"**, presentado por **COELLO RUGEL JOSEPH NAHIN** con C.I. No. **0929452142** y **SALTOS MICHILENA MARIA ANGELICA** con C.I. No. **0202356101** con mi respectiva supervisión como requerimiento parcial para la obtención del título de Químicos Farmacéuticos, en la Facultad de Ciencias Químicas, ha sido **REVISADO Y APROBADO** en todas sus partes, encontrándose apto para su sustentación.

A handwritten signature in blue ink, reading 'Pilar Soledispa Cañarte', written over a horizontal line.

Q.F.PILAR SOLEDISPA CAÑARTE M.Sc
DOCENTE TUTOR REVISOR
C.I. 0909244352
FECHA: 13 de Octubre del 2020



UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL
CARRERA: QUÍMICA Y FARMACIA
UNIDAD DE TITULACIÓN



CERTIFICADO DEL TRIBUNAL
ACTA DE REGISTRO DE SUSTENTACIÓN ORAL

El Tribunal de sustentación de **COELLO RUGEL JOSEPH NAHIN** con C.I. No. **0929452142** y **SALTOS MICHILENA MARIA ANGÉLICA** con C.I. No. **0202356101**, después de ser examinados en su presentación, memoria científica y defensa oral da por aprobado el trabajo de titulación.

Q.F.PILAR SOLEDISPA CAÑARTE M.Sc
PRESIDENTE MIEMBRO 1 DEL TRIBUNAL



Firmado electrónicamente por:
MARIA ELENA
JIMENEZ
HEINERT

Dra. MARÍA ELENA JIMÉNEZ HEINERT M.Sc.
DOCENTE MIEMBRO 2 DEL TRIBUNAL

Q.F. GIOMARA QUIZHPE MONAR M.Sc.
DOCENTE MIEMBRO 3 DEL TRIBUNAL

Ab. FRANCISCO PALOMEQUE ROMERO Mgs
SECRETARIO GENERAL



UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL
CARRERA: QUÍMICA Y FARMACIA
UNIDAD DE TITULACIÓN



**ANEXO XII.- DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y DE AUTORIZACIÓN DE
LICENCIA GRATUITA INTRANSFERIBLE Y NO EXCLUSIVA PARA EL USO NO
COMERCIAL DE LA OBRA CON FINES NO ACADÉMICOS**

Nosotros, **COELLO RUGEL JOSEPH NAHIN** con C.I. No. **0929452142** y **SALTOS MICHILENA MARIA ANGELICA** con C.I. No. **0202356101** certificamos que los contenidos desarrollados en este trabajo de titulación, cuyo título es **“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LA SEMILLA DE AGUACATE (*Persea americana Mill*) VARIEDAD Hass A TRAVÉS DEL MÉTODO DPPH”** son de mi/nuestra absoluta propiedad y responsabilidad, en conformidad al Artículo 114 del CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN*, autorizo/amo la utilización de una licencia gratuita intransferible, para el uso no comercial de la presente obra a favor de la Universidad de Guayaquil.

JOSEPH NAHIN COELLO RUGEL

C.I. No. 0929452142

MARIA ANGÉLICA SALTOS MICHILENA

C.I. No. 0202356101

*CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN (Registro Oficial n. 899 - Dic./2016) Artículo 114.- De los titulares de derechos de obras creadas en las instituciones de educación superior y centros educativos.- En el caso de las obras creadas en centros educativos, universidades, escuelas politécnicas, institutos superiores técnicos, tecnológicos, pedagógicos, de artes y los conservatorios superiores, e institutos públicos de investigación como resultado de su actividad académica o de investigación tales como trabajos de titulación, proyectos de investigación o innovación, artículos académicos, u otros análogos, sin perjuicio de que pueda existir relación de dependencia, la titularidad de los derechos patrimoniales corresponderá a los autores. Sin embargo, el establecimiento tendrá una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra con fines académicos.

DEDICATORIA

A mi padre Darwin quien se ha esforzado toda la vida para brindarnos lo mejor, al cual admiro mucho porque es el mejor profesional que eh conocido en el país sin dudarlo es uno de los mejores me siento orgulloso de él y me da la fuerza para poder ser mejor profesional y algún día superarlo también aclaro que como papa es el mejor siempre se sacrificó por nosotros y este pequeño escalón se lo dedico.

A mi madre por ser la reina de mi vida y siempre apoyarme en cualquier locura de mi vida, siempre creyendo en el potencial que tengo y consentirme como su bebe. La que dejo muchas cosas en su juventud para poder criar al hijo más exitoso a ella le dedico este pequeño peldaño.

A mi hermano Erick y a mi hermana Brittany por ser los hermanos que siempre están ahí para hacerme reír cuando el día no ha sido bueno les dedico este pequeño logro y anhelando que pueden llegar más lejos que yo.

Por último, a mis mejores amigos, a Jostin Cevallos por ser el que desde nivelación me ayudo a pasar esta odisea de la carrera, siempre apoyándonos y sonriendo en las buenas y malas. A María Saltos quien conocí en la última etapa de la carrera, pero sin dudarlo se ha ganado mi corazón y la que también ha confiado en mí potencial y saca lo mejor de mí, sin dudarlo les debo mucho a ellos y juntos disfrutamos este éxito

Joseph Nahin Coello Rugel

DEDICATORIA

A mi madre por brindarme su apoyo constante y fuerza para afrontar los retos que se me han presentado en la vida sin dejarme que desmaye en mi propósito; y a mi padre que se siente orgulloso por cada pasito que he dado para cumplir mi sueño de ser Química Farmacéutica.

A mis hermanas, pese a que tenemos diferencias siempre han estado conmigo apoyándome cuando las he necesitado, a mi abuelita que también ha estado allí apoyándome para que cumpla mis sueños sin perder la fe hasta conseguir lo que he anhelado a lo largo de estos años de estudio.

A mi hijo, quien ha sido mi motor de lucha para seguir adelante; él es esa persona que he puesto en frente de mi para no rendirme y demostrarle que su madre está dando lo mejor de ella para que no le falte nada en su futuro.

A Joseph Coello, que en el poco tiempo de conocerlo se convirtió en alguien importante en mi vida, tanto que pasó de ser mi compañero de tesis a ser mi mejor amigo.

María Angélica Saltos Michilena

AGRADECIMIENTO

Agradezco a nuestro tutor Q. F Danilo Barros Salazar MSc. por brindarnos su apoyo y comprensión en el desarrollo de este trabajo de tesis a pesar de la situación actual del mundo (COVID-19), él nos ayudó a sacar lo mejor y realizar un trabajo de calidad y a la Q.F Laura Valdez López por orientarnos a la elaboración de nuestro tema de tesis y compartir sus conocimientos.

Joseph Nahin Coello Rugel

AGRADECIMIENTO

Agradezco a nuestro Tutor Q. F Danilo Barros Salazar M.Sc. por brindarnos su tiempo, apoyo incondicional, paciencia y por guiarnos en el desarrollo de este trabajo de Tesis y lograr conjuntamente la culminación del mismo, además por promover el crecimiento a ser mejores profesionales.

A la Q.F Laura Valdez López quien nos guio y alentó a seguir adelante con nuestra tesis y que por circunstancia de la vida no logró seguir en esta trayectoria.

María Angélica Saltos Michilena

RESUMEN.....	XIX
INTRODUCCIÓN.....	1
CAPITULO I PROBLEMA	2
I.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	2
I.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	2
I.3. JUSTIFICACION E IMPORTANCIA.....	3
I.4. HIPOTESIS.....	4
I.5. VARIABLES.....	4
I.5.1. VARIABLE DEPENDIENTE	4
I.5.2. VARIABLE INDEPENDIENTE.....	4
I.6. OPERACIONALIZACION DE VARIABLES.....	4
I.7. OBJETIVOS.....	5
I.7.1. OBJETIVO GENERAL	5
I.7.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS.....	5
CAPITULO II MARCO TEÓRICO.....	6
II.1. Antecedentes <i>Persea americana Mill</i>	6
II.2. Etimología	6
II.3. Taxonomía.....	6
II.4. Descripción botánica.....	7
II.4.1. El árbol	7
II.4.2. Hojas.....	7
II.4.3. Fruto.....	8
II.4.4. Semilla.....	8
II.5. Composición nutricional del aguacate.....	9
II.6. Usos etnobotánicos	9
II.7. Propiedades medicinales	10
II.8. Composición de la semilla	10
II.9. Reproducción	11
II.10. Variedades.....	12
II.11. Cultivo en el Ecuador	13
II.12. Recolección	13
II.13. Aplicaciones de los residuos de aguacate.....	14
II.14. Composición analítica de los alimentos: Análisis de los alimentos.....	16

II.15.	Componente químico vegetal.....	16
II.15.1.	Metabolitos secundarios.....	17
II.15.1.1.	Principales usos de los metabolitos secundarios.....	17
II.16.	Antioxidantes.....	19
II.17.	Evaluación de la actividad antioxidante	20
II.18.	Métodos para la determinación de la Actividad Antioxidante	21
II.20.1.1.	Ventajas del DPPH.....	22
CAPITULO III MATERIALES Y MÉTODOS		23
III.1.	Método de Investigación.....	23
III.2.	Población y muestra	23
III.3.	Materiales	24
III.3.1.	Materia prima	24
III.3.2.	Materiales de laboratorio	24
III.3.3.	Equipos	25
III.3.4.	Reactivos	26
III.4.	Metodología de procesos	26
III.4.1.	Operaciones preliminares del material vegetal.....	26
III.4.2.	Determinación de los parámetros de calidad	28
III.4.3.	Preparación del extracto.....	31
III.4.4.	Identificación de los metabolitos secundarios	32
III.4.5.	Determinación de la Capacidad antioxidante por el método de DPPH	35
CAPITULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES		37
IV.1.	Características macroscópicas.....	37
IV.2.	Parámetros físico- químicos aplicados a las semillas	38
IV.2.1.	Humedad.....	38
IV.2.2.	Cenizas.....	38
IV.3.	Identificación de los metabolitos secundarios	40
IV.4.	Evaluación de la actividad antioxidante a través del método DPPH	43
IV.4.1.	Preparación del Radical DPPH	43
IV.4.2.	Curva de Calibración	43
CAPITULO V		52
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES		52

V.1 Conclusiones	52
V.2 Recomendaciones	53
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	54
GLOSARIO	58
ANEXOS	60
HUMEDAD	63
DETERMINACIÓN DE CENIZAS TOTALES	63
DETERMINACION DE CENIZAS INSOLUBLES EN AGUA Y ÁCIDO	64
DETERMINACIÓN DE SUSTANCIAS SOLUBLES	65

INDICE DE TABLAS

Tabla I Descripción taxonómica del aguacate.....	6
Tabla II Clasificación de los antioxidantes	20
Tabla III Criterios de interpretación de pruebas cualitativas	35
Tabla IV Características macroscópicas de las semillas del fruto <i>Persea americana</i> Mill variedad <i>Hass</i>	37
Tabla V Porcentajes de Humedad de semillas del fruto <i>Persea americana</i> Mill variedad <i>Hass</i>	38
Tabla VI Porcentaje de Cenizas Totales de las semillas del fruto <i>Persea americana</i> Mill variedad <i>Hass</i>	39
Tabla VII Resultados para la identificación de metabolitos secundarios en la semilla <i>Persea americana</i> Mill variedad <i>Hass</i>	40
Tabla VIII Datos de la curva de calibración del ácido ascórbico.....	44
Tabla IX Datos de la curva de calibración del ácido ascórbico.....	44
Tabla X Resultado en % del extracto acuoso de semilla <i>Persea americana</i> Mill..	45
Tabla XI Resultado en % del extracto etanólico de semilla <i>Persea americana</i> Mill variedad <i>Hass</i>	48

INDICE DE FIGURAS

Figura 1 Árbol de aguacate.....	7
Figura 2 Hojas de aguacate.....	7
Figura 3 Aguacate fruto.	8
Figura 4 Semilla de aguacate	8
Figura 5 Reacción Química entre el radical DPPH y el agente antioxidante.	22
Ilustración 6. Balanza Analítica	25
Figura 7 Semilla de aguacate <i>Persea americana</i> Mill. variedad <i>Hass</i> Cubierta seminal, cotiledones y eje.....	28
Figura 8 Curva del estándar del ácido ascórbico.....	45
Figura 9 Curva del % de inhibición de la semilla <i>Hass</i>	47
Figura 10 Curva del % de inhibición de la semilla <i>Hass</i>	50

INDICE DE ANEXOS

Ilustración. 1 Pesaje de las semillas de <i>Persea americana</i> Mill variedad Hass... 59	59
Ilustración. 2 Fruto <i>Persea americana</i> Mill variedad Hass. 59	59
Ilustración. 3 Eliminación de restos de pulpa de las semillas <i>Persea americana</i> Mill variedad Hass. 59	59
Ilustración. 4 Lavado de las semillas <i>Persea americana</i> Mill variedad Hass..... 59	59
Ilustración. 5 Secado en la estufa de las semillas <i>Persea americana</i> Mill variedad Hass..... 60	60
Ilustración. 6 Estufa para el secado de las semillas <i>Persea americana</i> Mill variedad Hass..... 60	60
Ilustración. 7 Molienda de las semillas <i>Persea americana</i> Mill variedad Hass. ... 60	60
Ilustración. 8 Semillas secas <i>Persea americana</i> Mill variedad Hass. 60	60
Ilustración. 9 Almacenamiento de Semillas <i>Persea americana</i> Mill variedad Hass. 61	61
Ilustración. 10 Semillas <i>Persea americana</i> Mill variedad Hass. molidas. 61	61
Ilustración. 11 Características macroscópicas de las semillas <i>Persea americana</i> Mill variedad Hass. 61	61
Ilustración. 12 Humedad realizada a las semillas <i>Persea americana</i> Mill variedad Hass..... 62	62
Ilustración. 13 Pesaje de muestra para el ensayo de humedad..... 62	62
Ilustración. 14 Muestras para cenizas 62	62
Ilustración. 15 Muestras de semillas <i>Persea americana</i> Mill variedad Hass en la mufla. 62	62
Ilustración. 16 Muestras de semillas <i>Persea americana</i> Mill variedad Hass puestas en desecador. 63	63
Ilustración. 17 Muestras de semillas <i>Persea americana</i> Mill variedad Hass incineradas. 63	63
Ilustración. 18 Cenizas insolubles en ácido 63	63
Ilustración. 19 Cenizas insolubles en agua..... 63	63
Ilustración. 20 Sustancias solubles..... 64	64
Ilustración. 21 Ensayo de Lieberman-Burchard 64	64
Ilustración. 22 Ensayo de Baljet 64	64
Ilustración. 23 Ensayo de Espuma 65	65
Ilustración. 24 Ensayo de sudan..... 65	65
Ilustración. 25 Ensayo de Cloruro Férrico..... 65	65
Ilustración. 26 Ensayo de Borntrager 65	65
Ilustración. 27 Ensayo de sudan..... 65	65

RESUMEN

Persea americana Mill conocida comúnmente como aguacate, esta planta es conocida por su amplio consumo y a su vez presenta un alto poder antioxidante que ayuda a inhibir la degradación oxidativa. El presente trabajo tiene como objetivo evaluar actividad antioxidante de las semillas de aguacate (*Persea americana Mill*) variedad *Hass*. En esta investigación se utilizaron las semillas, las cuales después de la recolección fueron secadas en estufa a una temperatura de 60°C, molidas y almacenadas en un ambiente fresco y protegido de la luz, hasta su empleo. Se realizó un análisis fisicoquímico al extracto evidenciando un porcentaje de Humedad de (12,2364%), cenizas totales (5,25%), cenizas insolubles en agua (2,8%), cenizas insolubles en ácido (1,14%); el último análisis realizado al extracto fue el de la actividad antioxidante mediante la reducción del 2,2 difenil-1- picrilhidrazilo (DPPH), en esta técnica se utilizó medidas en microlitros del extracto, obteniendo en 2 uL un porcentaje de inhibición del 88,15%, en 20 uL un porcentaje de inhibición del 92,38% y en el de 160 uL un porcentaje de inhibición del 93,08%, por lo contrario en el extracto etanólico se obtuvo en 2 uL un porcentaje de inhibición del 7,98%, en 20 uL, un porcentaje de inhibición del 16,27% y en el de 160 uL un porcentaje de inhibición del 46,72%.por lo tanto, se concluye que el extracto acuoso es aquel que presentó mayor porcentaje de inhibición para actividad antioxidante.

Palabras claves: Actividad antioxidante, semillas *Persea americana Mill*, parámetros de calidad

ABSTRACT

Persea americana Mill known as avocado, this plant is known for its wide consumption and once has a high antioxidant power that helps to inhibit oxidative degradation. The present work aims to evaluate the antioxidant activity of avocado seeds (*Persea americana Mill*) variety Hass. In this research the seeds were used, which from the collection were dried in an oven at a temperature of 60 ° C, ground and stored in a cool environment protected from light, until their use. A physicochemical analysis was carried out on the extract showing a moisture percentage of (12.2364%), total ash (5.25%), water insoluble ash (2.8%), acid insoluble ash (1.14%) ; the last analysis performed on the extract was the antioxidant activity by reducing 2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), in this technique measurements in microliters were used of the extract, obtaining in 2 uL an inhibition percentage of 88.15%, in 20 uL an inhibition percentage of 92.38% and in 160 uL an inhibition percentage of 93.08%, on the contrary in the Ethanolic extract was obtained in 2 uL a percentage of inhibition of 7.98%, in 20 uL, a percentage of inhibition of 16.27% and in 160 uL a percentage of inhibition of 46.72%. it is concluded that the extract aqueous is the one that presented the highest percentage of inhibition for antioxidant activity.

Keywords: Antioxidant activity, seeds, *Persea americana Mill*, quality parameters

LISTA DE ABREVIATURAS

g: gramo

mg: miligramos

µg: microgramos

L: Litro

µL: microlitros

mL: mililitros

nm: nanómetros

°C: grado Celsius

cm: centímetro

DPPH: 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl

INEN: Instituto Ecuatoriano de Normalización

INIAP: Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias

ISO: Organización Internacional de Normalización

ORAC: (Oxygen Radical Absorbance Capacity)

USP: Farmacopea de Estados Unidos

INTRODUCCIÓN

La semilla *Persea americana Mill* variedad *Hass*, puede ser ovoide, redonda o cónica, de 5 a 6.4 centímetros de largo, dura y pesada, de color marfil rosado, envuelta en dos capas como papeles de color café, frecuentemente adheridas a la cavidad pulposa, mientras la semilla sale fácilmente. Algunos frutos no tienen semilla por falta de polinización u otros factores. (Bernal & Díaz, 2008)

En la literatura consultada estudios realizados a las semillas del fruto de *P. americana Mill* han demostrado que mejoraran el hipercolesterolemia y ser útiles en el tratamiento de la hipertensión, enfermedades inflamatorias y diabetes, reducir el colesterol, la cual ha sido estudiada en modelos animales a nivel de laboratorio. (Dabas, Shegog, & Ziegler, 2013)

Los antioxidantes son compuestos inhiben la oxidación de las moléculas mediante la propagación de las reacciones de radicales libres y gran parte de las frutas disponen de ello, siendo fuente importante de nutrientes y metabolitos que ayudan al organismo, que en su mayoría solo se utiliza la parte comestible de las mismas, y se desecha su semilla, lo que genera una gran fuente de residuos orgánicos.

El presente trabajo de investigación permitirá determinar la actividad antioxidante de dos extractos (acuoso y etanólico) obtenidos a partir de las semillas de aguacate de la variedad *Hass*. El extracto obtenido de la semilla de la fruta sometido a una evaluación de su actividad antioxidante utilizando el radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) y comparado frente a una solución patrón Ácido Ascórbico.

CAPITULO I PROBLEMA

I.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En el Ecuador desde la antigüedad se han estudiado una gran variedad de especies de plantas que son importante por sus actividades terapéuticas, debido a su posición geográfica existe gran variedad de frutas, siendo el aguacate (*Persea americana Mill*) una de ellas por su poder nutritivo.

En la actualidad por diversos estudios se ha demostrado que los radicales libres son el mecanismo común de las toxicidades del oxígeno y de la radiación; cuando ocurre un aumento en la presión parcial del oxígeno o una disminución de la defensa antioxidante lleva a un daño celular y tisular, siendo la toxicidad del oxígeno un fenómeno continuo. (Avello & Suwalsky, 2006)

En Ecuador existen pocas referencias bibliográficas y/o experimentales, por tal motivo la presente investigación surge la necesidad de estudiar la actividad antioxidante de la semilla *Persea americana Mill* por razones que al ser consumida la fruta; la semilla tiende a ser parte del desecho sin tener en cuenta que se podría obtener valiosa información que servirá para contribuir a investigaciones futuras

De manera que el presente estudio procura detallar la evaluación de la actividad antioxidante de la semilla *Persea americana Mill*. variedad *Hass* a través del método DPPH.

I.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿Presentarán los extractos provenientes de las semillas de *Persea americana Mill* variedad *Hass* capacidad antioxidante por el método DPPH?

I.3. JUSTIFICACION E IMPORTANCIA

En el Ecuador existe una gama de especies vegetales que son destacadas por sus usos tradicionales, entre ellas esta *Persea americana Mill* que contiene bondades para contrarrestar los radicales libres, esto ocurre gracias a la presencia de metabolitos secundarios que se producen dentro de las mismas. Estudios recientes indican que la semilla de *Persea americana Mill*, contiene una humedad de 56.04 %, lípidos (1.87 %), proteína (1.95 %), cenizas (1.87 %), fibra (5.10 %) y 33.17 % de carbohidratos y almidón, aportando con un 70% de la actividad antioxidante. (Dabas, Shegog, & Ziegler, 2013)

Al determinar la capacidad antioxidante de la semilla *Persea americana Mill* nos permite identificar un alto valor antioxidante de este producto. Por eso se trabajó a nivel de laboratorio para describir las propiedades antioxidantes del extracto como uso preventivo contra múltiples enfermedades crónicas degenerativas y de esta forma obtener un tratamiento terapéutico de manera natural o científico

La importancia del presente estudio se centra en evaluar la actividad antioxidante de la semilla *Persea americana Mill* variedad *Hass* en beneficio de la población, para prevenir enfermedades causadas por el estrés oxidativo, aportando información científica sobre los beneficios de las semillas, para el uso posterior en la industria farmacéutica, alimentaria y cosmética; promoviendo su uso en lugar que este sea desechado.

I.4. HIPOTESIS

La semilla de aguacate (*Persea americana Mill*), presentan metabolitos secundarios con actividad antioxidante.

I.5. VARIABLES

I.5.1. VARIABLE DEPENDIENTE

Capacidad antioxidante de la semilla de aguacate (*Persea americana Mill*).

I.5.2. VARIABLE INDEPENDIENTE

Variedad *Hass*

I.6. OPERACIONALIZACION DE VARIABLES

TIPO		VARIABLES	CONCEPTUALIZACIÓN	INDICADOR
DEPENDIENTE	Actividad Antioxidante	Composición Química	Metabolitos secundarios	Pruebas positivas (+)
		Método	DPPH	ug/mg %
INDEPENDIENTE	Tipo de muestra	Variedad	<i>Hass</i>	Semilla

I.7. OBJETIVOS

I.7.1. OBJETIVO GENERAL

- Analizar la actividad antioxidante de la semilla *Persea americana Mill* variedad *Hass* por medio del método DPPH.

I.7.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Establecer los parámetros de calidad de la semilla *Persea americana Mill* variedad *Hass*.
- Describir los metabolitos principales de la composición química de la semilla *Persea americana Mill*.

CAPITULO II MARCO TEÓRICO

II.1. Antecedentes *Persea americana* Mill

Se considera que el aguacate *Persea americana* es originario de la zona montañosa del occidente de México y Guatemala. Su distribución natural va desde México, Perú, Centro América, Venezuela, Colombia y Ecuador. Después del descubrimiento y conquista de América el cultivo del aguacate fue diseminado a Centro América, Colombia y Perú, y finalmente a otros lugares del mundo, como es Europa, Sur África, Sur América y Asia. (Bernal & Díaz, 2008)

II.2. Etimología

La palabra aguacate proviene de la lengua azteca “nahuatl”, para designar este fruto se utilizaba un símil que por su forma y posición en el árbol lo comparaban a un testículo; la palabra empleada era ahuacatl y fue usada por primera vez por Francisco Cervantes de Salazar, en su obra ‘México en 1554’. Su nombre en inglés “avocado”, deriva de la palabra en español abogado, una adaptación de la palabra azteca ahuacatl, que se convirtió en avocat en francés y advokaat en holandés. En la actualidad aún se utiliza el nombre Inca de Palta en Perú, Ecuador y Chile.

II.3. Taxonomía

Tabla I Descripción taxonómica del aguacate.

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Subdivisión	Angiospermae
Clase	Magnoliopsida
Orden	Laurales
Familia	Lauraceae
Género	<i>Persea</i>
Especie	<i>Persea americana</i> Mill

Fuente: (Bernal & Díaz, 2008)

II.4. Descripción botánica

II.4.1. El árbol

El árbol de aguacate como promedio puede alcanzar una altura de 20 metros, esta especie vegetal es de tronco grueso. Es una planta polimórfica. Dentro de las diferentes formas del árbol están: columnar, piramidal, obovado, rectangular, circular, semicircular, semielíptico, irregular, entre otros. (Pérez, Ávila, & Coto, 2015)



Figura 1 *Árbol de aguacate.*

Fuente: (Pérez, Ávila, & Coto, 2015)

II.4.2. Hojas

Las hojas del aguacate son pecioladas, alternas; su forma es diversa, pudiéndose encontrar formas como ovada, obovada angosta, obovada, oval, redondeada, cordiforme, lanceolada, oblonga y oblongo-lanceolada; el margen puede ser entero u ondulado; la base puede ser aguda, obtusa y truncada; la forma del ápice puede ser muy agudo, agudo intermedio, obtuso y muy obtuso, con unas dimensiones de 8 a 40 cm de longitud y de 3 a 10 cm de ancho. (Bernal & Díaz, 2008)



Figura 2 *Hojas de aguacate.*

Fuente: (Bernal & Díaz, 2008)

II.4.3. Fruto

El fruto es una drupa, en forma de pera, pasa de color verde claro a verde oscuro y de violeta a negro, cáscara rugosa con una pulpa verde amarillenta y un hueso central muy grande. Existen aproximadamente unas 400 variedades, por lo que podemos encontrar frutos de formas y pesos diferentes, que pueden llegar a pesar de 150 a 350 gramos. (Pérez, Ávila, & Coto, 2015)



Figura 3 Aguacate fruto.

Fuente: (Pérez, Ávila, & Coto, 2015)

II.4.4. Semilla

La semilla, única, puede ser ovoide, redonda o cónica, de 5 a 6.4 centímetros de largo, dura y pesada, de color marfil rosado, envuelta en dos capas como papeles de color café, frecuentemente adheridas a la cavidad pulposa, mientras la semilla sale fácilmente. Algunos frutos no tienen semilla por falta de polinización u otros factores. (Bernal & Díaz, 2008)



Figura 4 Semilla de aguacate

Fuente: (Bernal & Díaz, 2008)

II.5. Composición nutricional del aguacate

El aguacate *P. americana Mill* por su alto valor nutritivo., posee hidratos de carbono, proteínas, grasas, vitaminas A, C, D, B6 y E (importante antioxidante), fibra, agua y minerales, siendo abundante en potasio y magnesio y pobre en sodio, dentro de su composición una importante cantidad de grasas, las cuales se encuentran en alrededor del 20% del fruto. El aguacate tiene ácidos grasos poliinsaturados (omega 3 y omega 6), que ayudan a reducir el colesterol. (Dabas, Shegog, & Ziegler, 2013)

Se destacan dentro de los componentes del aguacate, el ácido linoleico y el ácido oleico. Dentro de la composición química del aguacate, se destaca la abundante cantidad de sales minerales. El fruto del aguacate tiene potasio, magnesio, hierro y cobre, los cuales se encuentran en una proporción del 400, 50, 0.4 y 0.3 mg, por cada 100 gramos de fruto. (Pérez, Ávila, & Coto, 2015)

En cuanto a la grasa, ésta es mayoritariamente monoinsaturada: el 72% del total de grasas es ácido oleico, característico del aceite de oliva. Este ácido se encuentra en gran cantidad y contribuye a combatir enfermedades cardiovasculares y cáncer, dado que actúa directamente sobre el colesterol LDL, conocido también como el “colesterol malo”. (Juri, 2015)

II.6. Usos etnobotánicos

Las semillas de aguacate son ricas en compuestos fenólicos, y estos pueden jugar un papel importante en los efectos para la salud. Se conoce que presenta una variedad de usos a nivel industrial: pulpas como base para productos untables, tanto frescas como refrigeradas o congeladas, mitades congeladas, y obtención de aceite, tradicionalmente para fines cosméticos, pero este último tiempo se ha incrementado la producción de aceite extra virgen para fines culinarios, teniendo un gran potencial futuro por sus propiedades. El aceite de aguacate es usado para aplicaciones dermatológicas, su porción insaponificable presenta beneficiosos

contra la osteoartritis. Estudios realizados demuestran el uso de semillas para el tratamiento de enfermedades por poseer propiedades insecticidas, fungicidas y antimicrobianas. (Dabas, Shegog, & Ziegler, 2013)

II.7. Propiedades medicinales

Existe una gran variedad de propiedades farmacológicas en los diferentes órganos (hojas, frutos, semillas y corteza) de *P. americana Mill*, por su amplia riqueza de metabolitos secundarios presentes en la especie. (Dabas, Shegog, & Ziegler, 2013)

En la literatura consultada estudios realizados a las semillas del fruto de *P. americana Mill* han demostrado que mejoraran el hipercolesterolemia y ser útiles en el tratamiento de la hipertensión, enfermedades inflamatorias y diabetes, reducir el colesterol, la cual ha sido estudiada en modelos animales a nivel de laboratorio. En un estudio realizado en ratas, tratadas con un extracto metabólico de semilla (50-300 mg/kg de peso corporal) se mostró una reducción dosis dependiente del colesterol total, los triglicéridos (TG), LDL, luego de 10 días de tratamiento observaron similares efectos en conejos luego de ser tratados con extractos acuosos de semilla *P. americana Mill* (100 y 200 mg/kg de peso corporal. (Dabas, Shegog, & Ziegler, 2013)

Según (Pahua, Ortiz, & Chamorro, 2012) afirman que el efecto del polvo de semilla de aguacate en los niveles de lípidos en ratones con una dieta hiperlipidémica, redujo significativamente los niveles de colesterol total, LDL-C y la predicción del índice aterogénico.

II.8. Composición de la semilla

Las semillas de aguacate contienen fibra y aminoácidos que ayudan a prevenir enfermedades cardíacas. Debido a que el 70% de aminoácidos están en la semilla y su aceite reduce los niveles de colesterol ayudando a mejorar enfermedades

cardiovasculares y disminuir paros cardiacos. Estudios recientes indican que la semilla *Persea americana Mill*, contiene una humedad de 56.04 %, lípidos (1.87 %), proteína (1.95 %), cenizas (1.87 %), fibra (5.10 %) y 33.17 % de carbohidratos y almidón, aportando con un 70% de la actividad antioxidante. (Gomez, Escalera, & Rojas, 2017)

II.9. Reproducción

- **Reproducción sexual:** La reproducción sexual, ocurre a través de un determinado potencial genético, esto se debe a su adaptación a condiciones ambientales particulares asegurando a través de su variabilidad genética la sobrevivencia de la especie. La descendencia de una especie vegetal que se reproduce sexualmente, presenta individuos con fenotipos lo suficientemente parecidos como para reconocer la especie, pero no idénticos, evidenciando variaciones genéticas dentro del genotipo típico para ese caso. (Barbat, 2006)
- **Reproducción Asexual:** Por medio de la reproducción asexual a diferencia de la reproducción sexual, los organismos vegetales colonizan eficazmente el nicho ecológico el cual su genotipo ya está adaptado. Los fenotipos de estos individuos son prácticamente idénticos dando poblaciones homogéneas. Provocando que la especie se expanda sin que su potencial hereditario se vea afectado. (Barbat, 2006)

Hasta la actualidad el aguacate ha sido propagado exclusivamente por semilla (reproducción sexual) y, actualmente, para establecer un cultivo comercial, en los países tropicales y subtropicales, se multiplica por injerto sobre estas plantas procedentes de semillas. (Romero & Diaz, 2016)

Dado que las plantaciones establecidas de esta manera sufren grandes variaciones en cuanto a vigor, longevidad y resistencia al frío y a las enfermedades, comunicadas precisamente, en la mayoría de los casos, por los portainjertos que las sostienen, no se podrá garantizar nunca un aceptable rendimiento de la inversión de una plantación comercial, ya que son considerables los riesgos a los que queda expuesta tal plantación por desconocerse los caracteres genéticos de las plantas procedentes de aquellas semillas. Es por ello por lo que se ha intentado recurrir a la propagación vegetativa o asexual, único camino capaz de asegurar portainjertos genéticamente idénticos (clónales), que garanticen las mejores condiciones posibles a la explotación. (Romero & Díaz, 2016)

II.10. Variedades

Existen tres tipos de razas de aguacate en el mundo, la mexicana, guatemalteca y antillana, estas se polinizan de forma natural entomófagamente, por lo cual, se ha llegado a una gran variedad genética que ha permitido se establezca como un cultivo altamente comercial. (Bernal & Díaz, 2008)

La variedad Hass (Hibrido por selección de guatemalteco), se caracteriza por el cambio de coloración de la piel de verde a purpura opaca en la etapa de maduración, la floración es de tipo tardío (300 - 360 días), la forma del fruto es oval, el peso se encuentra entre 140 - 400 g y el contenido de aceite es de 20 a 23 %. (Bernal & Díaz, 2008)

La variedad Fuerte (Hibrido natural mexicano y guatemalteco), se identifica por mantener su coloración verde tanto en la cosecha como en la época de consumo, diferenciándose en la pérdida de brillo y llegando a una tonalidad opaca en la madurez de consumo, la floración es calificada de tipo temprana (180 - 240 días), la forma del fruto es de tipo pera, su peso oscila entre 170 - 500 g, la cantidad de aceite es de 18 a 22 %. (Bernal & Díaz, 2008)

II.11. Cultivo en el Ecuador

El cultivo de aguacate en el Ecuador agronómicamente se realiza en suelos de textura liviana, profundos, bien drenados necesita de 3 a 5% de materia, con pH neutro o ligeramente ácido (5.5 a 7.5) o suelos arcillosos pero con buen drenaje, una precipitación de 600 a 900 mm anuales, rango de altitud de 400–2500 msnm y temperaturas ideales están entre 15-30°C. (INIAP, 2016)

Dentro del cultivo de aguacate por sus variedades de acuerdo a la especie presentan cambios diferentes, como lo es la especie guatemalteca que son más resistentes al frío a diferencia de la mexicana que presentan mayor tolerancia al frío, por ser este fruto sensible a temperaturas bajas se recomienda que su cultivo sea realizado a temperaturas entre 14 y 32°C. (INIAP, 2016)

II.12. Recolección

La recolección se hace a mano utilizando escalera, se corte el pedúnculo por encima de la inserción con el fruto. Dado que el fruto del aguacate tiene una actividad respiratoria muy intensa después de recolectado, su almacenamiento por períodos largos se hace difícil, ya que esta característica conlleva una intensa actividad microbiana y una fuerte disminución del contenido de agua en el fruto. (INIAP, 2016)

La magnitud de la respiración del fruto depende de las variedades, grado de madurez y de las condiciones ambientales de la zona y del almacenamiento. Por esta razón, la conservación de los frutos de aguacate destinados a la exportación se realiza en cámaras o almacenes con atmósfera controlada. (INIAP, 2016)

II.13. Aplicaciones de los residuos de aguacate

Después de la transformación industrial y consumo del fruto, se obtiene materiales residuales como la semilla y epicarpio que son fuente potencial para complementos alimenticios por los metabolitos presentes en ellos. En la antigüedad estos residuos eran utilizados para tratamiento micótico e infecciones parasitarias, también ciertas preparaciones de la semilla como tónico. (Ayala, Domínguez, & Palafox, 2011)

Estudios fitoquímicos previos realizados sobre la semilla del aguacate han identificado diferentes clases de metabolitos, entre los que se encuentran glucósidos del ácido abscísico, importantes en la maduración del embrión, ácidos grasos con enlaces oleofínicos y acetilénicos, ácidos furanoicos, dímeros de flavanoles, proantocianidinas oligoméricas, polifenoles y antocianinas. (Hurtado, Paccharotta, & Schoenmaker, 2011)

En la literatura consultada se ha encontrado que las semillas de aguacate pueden mejorar el hipercolesterolemia, y ser útiles en el tratamiento de la hipertensión, afecciones inflamatorias, diabetes y osteoartíricas, también poseen actividad insecticida, fungicida y antimicrobiana. Históricamente, también se utilizaron extractos de semillas de aguacate como tinta para la escritura, junto al tinte producido cuando se usa una polifenol oxidasa sobre los mismos extractos. (Dabas, Shegog, & Ziegler, 2013)

Se ha definido que el estrés oxidativo está fuertemente relacionado con el aumento de radicales libres obteniendo una reducción parcial provocando daño celular y el aumento de morbilidad de patologías entre estas se encuentran la arterioesclerosis, enfermedades del sistema nervioso central, cáncer, daño renal, etc. Eso nos explica la relación entre radicales libres y distintas enfermedades. (Carlos & Angelina, 2015)

Dentro de nuestro organismo los lípidos cumplen una función de soporte a la membrana pasan por una reacción de peroxidación provocada por los radicales libres. Cuando ocurre la peroxidación lipídica se tiene como resultados productos tóxicos perjudicando gravemente el estado de las células. Algunos productos de la lipoperoxidación tales como el malondialdehído, 4-hidroxinonenal, 2-alquenes e isoprostanos tienen mayor atención de la toxicología. (Devasagayam, Boloor, & Ramasarma, 2003)

El efecto de los radicales libres en los carbohidratos, se conoce muy poca información, sin embargo se determinó que los polisacáridos del grupo de los glucosaminoglucanos, en estos tenemos al ácido hialurónico, el condroitín sulfato, condrotín sulfato B, etc; los cuales tienden a degradarse al estar en contacto con los radicales libres, principalmente a radicales superóxido e hidroxilo, ocasionando una modificación en los proteoglucanos relacionándose en el proceso de inflamación. (Moseley, Waddington, & Embery, 2018)

Las moléculas de aminoácidos, tenemos a los monómeros libres como las cadenas polipeptídicas que son aptas a la oxidación por radicales libres dando como resultado peróxidos, cetoácidos y muchos derivados. Las proteínas tienden a oxidarse en el grupo amino, el grupo carboxilo o en las diferentes cadenas laterales que dan a cada aminoácido sus propiedades específicas. Con respecto a causar enfermedad, estos cambios producen la inactivación de enzimas, degradación de proteínas, propiedades de unión alteradas, el paso defectuoso de las moléculas pequeñas por la membrana (lo que es común en lípidos oxidados) y la oxidación de residuos de cisteína a dímeros de cisteína. (Iwa, 2018)

También se ha estudiado que la acumulación de proteínas oxidadas puede favorecer e acelerar el proceso de envejecimiento, pero no hay una demostración directa de esto. Evidentemente la degradación de proteínas, el mal plegamiento y oxidación pueden causar enfermedades crónicas, tales como el Alzheimer y la

esclerosis lateral amiotrófica, sin embargo no se tiene conocimiento de que las anomalías proteicas sean desencadenantes de enfermedades agudas. (Brody, 2015)

En 1956 fue cuando Denham Harman, profesor de la universidad de Nebraska, explico la relación entre los radicales libres y la vejez. Indicando que la esperanza de vida sería mayor si se disminuyera el efecto de curso de la oxidación. (Céspedes, Rodríguez, Llópiz, & Cruz, 2000)

II.14. Composición analítica de los alimentos: Análisis de los alimentos

El análisis de los alimentos permite identificar su valor nutricional y composición química, el análisis químico permite garantizar la calidad de dichos procesos, desde el control de materias primas. Las pruebas y ensayos que se realizan logran identificar componentes afines como grasas, proteínas, fibra, humedad, cenizas, sólidos totales entre otros, dichos ensayos presentaran variación en función de la naturaleza de la muestra. (Tigrero, 2018)

Dichos análisis de los alimentos son sometidos a diversos procesos a partir de los cuales se pretende conocer la composición del mismo. Cabe destacar que el método de análisis deberá vigilarse de modo constante y llevar procedimientos de control de calidad. (Evans, 2009)

II.15. Componente químico vegetal

Las plantas llevan a cabo procesos bioquímicos que le permiten mantener su homeostasis, procesos que implican la producción de metabolitos primarios y secundarios. (Tigrero, 2018)

- Metabolitos primarios son muy abundantes y desempeñan un papel esencial en el metabolismo básico, siendo estos esenciales para las actividades y funciones de la planta. (Tigrero, 2018)
- Metabolito secundario se consideran a aquellas sustancias que son producidas por otras especies y no son necesarias o esenciales para el crecimiento, desarrollo y funcionamiento de la planta, en general son los responsables del olor, sabor de la planta. (Tigrero, 2018)

II.15.1 Metabolitos secundarios

Algunos metabolitos que se encuentran presentes en la semilla de aguacate según fuentes bibliográficas son: compuestos alifáticos de cadena larga; 1,2,4-trihidroxi-n-heptadecano-16-eno; 1-acetoxi-2-hidroxi-4-oxo-heneicosano-12; 15-dieno (persina); protocianidina, la carnitina, carotenoides, el aceite de la semilla es abundante en tocoferol, glucósidos del ácido abscísico, fitosteroles, triterpenos, ácidos grasos con enlaces oleofínicos y acetilénicos, ácidos furanoicos, dímeros de flavanoles, proantocianidina oligoméricas, polifenoles y antocianinas. (Tigrero, 2018)

II.15.1.1 Principales usos de los metabolitos secundarios

Taninos: Son sustancias no nitrogenadas, soluble en agua, alcohol, acetona, poco solubles en éter. Se encuentran generalmente en las plantas y en mayor cantidad en células muertas o moribundas, los taninos ejercen un efecto inhibitor sobre muchas enzimas debido a la precipitación de proteínas, lo que les da la función protectora en corteza y duramen de las especies vegetales, se los usa a nivel industrial en la fabricación del cuero el cual se obtiene de árboles como el Quebracho, Acacia, Castaño y Myrobalans, en la industria farmacéutica se lo obtiene de las agallas del Roble, muchas plantas como la canela, el clavo de olor

entre otras contiene taninos entre sus principales componentes terapéuticos. (Tigrero, 2018)

Entre sus propiedades terapéuticas o medicinales, actúan como protección para superficies inflamadas de la boca la garganta, actúan como antidiarreicos, como antidotos en envenenamiento por metales pesados, alcaloides y glucósidos. Estudios recientes se han centrado en la actividad antitumoral de los taninos. (Tigrero, 2018)

Quinonas: La antraquinona tiene una acción laxante restringida al intestino grueso, retrasando su efecto hasta 6 horas más, además los derivados de antraquinona y antranol influyen en el transporte de iones a través de las células del colon mediante la inhibición de los canales de Cl. (Tigrero, 2018)

Flavonoides: Tiene propiedades antitrombóticas y vasoprotectoras, para la inhibición de tumores y actúa como protector para la mucosa gástrica. Alguna de estas propiedades farmacológicas puede explicarse sobre la base de la actividad antioxidante. (Tigrero, 2018)

Según (Netzer, 2008) afirma que los flavonoides aparte de las propiedades que presenta, regulan el uso de la vitamina C por parte del cuerpo, estimulando su efecto en la cicatrización de heridas.

Saponinas: Las saponinas esteroides son de gran importancia farmacéutica debido a que son utilizados para la síntesis parcial de materiales con fines medicinales como es el caso de esteroides, la cortisona, las hecogenina con sustitución proporciona el material de partida para la síntesis de los corticosteroides, la diosgenina para la elaboración de anticonceptivos orales y las hormonas sexuales, también puede usarse para la síntesis de corticosteroides. (Tigrero, 2018)

Aceites y grasas: Las semillas utilizadas para la extracción de aceites tiene mayor tendencia a ser importante a la de los cereales, existe una gamma de aceites

los cuales van a intervenir en la cantidad de carbonos que la cadena de ácido graso que posea, pueden presentarse sólidos o líquidos, y el aguacate es una de las frutas que posee un aceite de gran calidad. (Tigrero, 2018)

II.16. Antioxidantes

Los antioxidantes de fuentes naturales, son fácilmente aceptados por los consumidores considerándolos como seguros; estos antioxidantes neutralizan los radicales libres que perjudican a nuestro cuerpo causando desde envejecimiento hasta enfermedades asociadas con el estrés oxidativo. (Sayari, 2015)

En los alimentos las grasas y aceites presentes se deterioran a través de varias reacciones de degradación, estas reacciones se dan por efecto del calor y del almacenamiento a largo plazo, lo cual sería una disminución del valor nutricional del alimento y de la calidad sensorial. Un retraso de estos procesos de oxidación beneficiaría a la cadena de producción de alimentos. (Pokorny & Yanishlieva, 2015)

Según (Wanasundara & Shahidi, 2015) definen a los antioxidantes como cualquier sustancia que cuando está presente en bajas concentraciones en comparación al sustrato oxidable, retarda significativamente o previene la oxidación del sustrato, el cual tiene una variedad compleja de biomoléculas susceptibles a la oxidación, tales como proteínas y lípidos.

Los antioxidantes se clasifican en endógenos que se encuentran naturalmente en el organismo y se sintetizan en las células, y exógenos que son ingeridos a través de la dieta diaria. (Pokorny & Yanishlieva, 2015)

Tabla II Clasificación de los antioxidantes

Endógenos	Exógenos
Glutation Coenzima Q	Vitamina E (VE)
Ácido tiótico	Vitamina C (VC)
Enzimáticos, Cofactor	Betacaroteno (BC)
Superóxidodismutasa (SOD), cobre, manganeso, zinc, Catalasa (CAT), hierro	Flavonoides
Glutatiónpoxidasa (GPX) Selenio	Licopeno

Fuente: (Pokorny & Yanishlieva, 2015)

II.17. Evaluación de la actividad antioxidante

La capacidad antioxidante dependerá del microambiente en que el compuesto se encuentre. Los compuestos interactúan entre sí, produciendo efectos sinérgicos o inhibitorios. Aunque, es importante considerar que los ensayos in vivo pueden presentar algunas complicaciones, como la adaptabilidad en respuesta al aumento del estrés oxidativo. (Kuskoski & Asuero, 2015)

Según (Tigrero, 2018) , la actividad antioxidante de un compuesto o de un extracto se evalúa por la resistencia a la oxidación de los lípidos presentes en el alimento; por lo tanto, la mayor parte de los métodos utilizados para evaluar la actividad antioxidante hacen seguimiento a los pasos de oxidación de los lípidos, los cuales pueden dividirse en tres grupos:

- Decaimiento del substrato, compuesto de prueba o consumo de oxígeno.
- Formación de productos de oxidación a partir del substrato oxidable.
- Formación o decaimiento por el sondeo de radicales libres. (Tigrero, 2018)

La actividad antioxidante es función del tiempo (velocidad de reacción), tipo de sustrato, temperatura, concentración del antioxidante, concentración de otras sustancias (oxígeno, peróxidos, presencia de otros antioxidantes o prooxidantes) y

el coeficiente de partición del antioxidante en el sustrato. (Pokorny & Yanishlieva, 2015)

II.18. Métodos para la determinación de la Actividad Antioxidante

Se han desarrollado un gran número de ensayos y metodologías para medir la actividad antioxidante, clasificándose de acuerdo al tipo de reacción que los fundamenta. (Fernández, 2018)

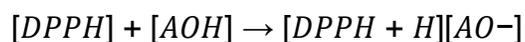
- Ensayos basados en la transferencia de un átomo de hidrogeno (HAT, Hydrogen Atom Transfer). Estos permiten medir la capacidad de un antioxidante para captar radicales libres mediante la donación de átomos de hidrógenos.
- Ensayos basados en la transferencia de un electrón (ET, Electron Transfer). En la mayoría de los ensayos basados en ET, se simula la acción antioxidante con una sonda de potencial redox específica.

II.19. Método de estudio

II.19.1. DPPH (2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo)

Es uno de los análisis de captación de radicales libres, la molécula 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH) nombrado como un radical libre estable debido a la deslocalización de un electrón desapareado sobre la molécula completa. Cuando la solución de DPPH reacciona con el sustrato antioxidante, que puede ceder un átomo de hidrógeno, el color violeta se desvanece. (Aymacaña, 2018)

La reacción entre el radical DPPH y un antioxidante puede representarse de la siguiente manera:



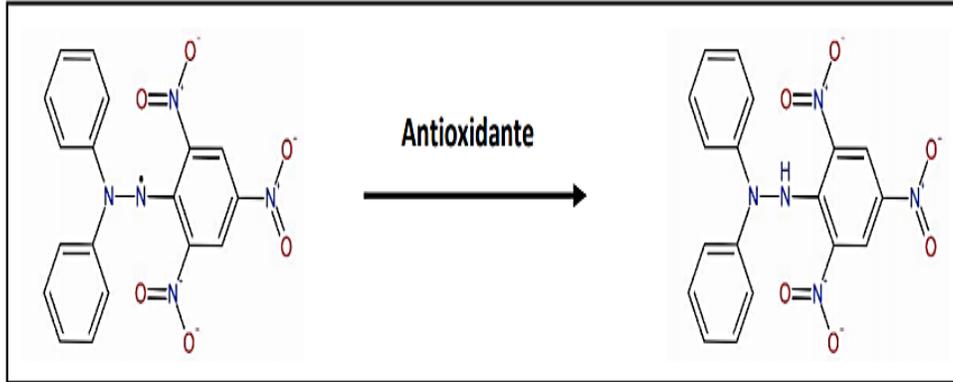


Figura 5 Reacción Química entre el radical DPPH y el agente antioxidante.

Fuente: (Sayari, 2015)

La capacidad antioxidante, se mide en términos de donación de hidrógeno o capacidad de eliminación de radicales, utilizando el DPPH estable como reactivo. El método DPPH, es ampliamente utilizado para investigar las actividades de captación de radicales libres de compuestos. El DPPH, es un radical libre estable que muestra una absorbancia máxima a 517 nm. Cuando los radicales DPPH encuentran un sustrato donador de protones como un antioxidante, son eliminado y la absorbancia a 517 nm se reduciría, tomándose como una medida para la actividad de eliminación de radicales. (Sayari, 2015)

II.19.2. Ventajas del DPPH

- En el ensayo de DPPH es rápido y simple, solo necesita el UV-visible.
- Los radicales peroxilos reacciona lentamente y hasta pueden ser inactivo frente al DPPH.

CAPITULO III MATERIALES Y MÉTODOS

III.1. Método de Investigación

El presente trabajo de titulación se centra de acuerdo a los objetivos planteados a un enfoque cuantitativo, basado en la recolección de datos y el análisis de los mismos para la comprobación de las hipótesis establecidas. Este enfoque se basa en medición numérica, el conteo y uso de la estadística para establecer con exactitud los patrones existentes en una población.

Análisis documental: Para el desarrollo del presente trabajo de investigación se aplica el uso y consulta de diversos materiales bibliográficos como: artículos científicos, tesis, revistas, libros, monografías, sitios web, entre otros, respetando los derechos de autor en cada caso.

Diseño de la investigación:

Esta investigación presenta diferentes etapas:

1. Recolección de la muestra.
2. Determinación de parámetros fisicoquímicos: Humedad, Cenizas totales, Cenizas insolubles en agua, Cenizas insolubles en ácido, Sustancias solubles.
3. Identificación de metabolitos secundarios.
4. Preparación del extracto.
5. Determinación de la actividad antioxidante por el método DPPH.

III.2. Población y muestra

La población para esta investigación está comprendida por 2000 frutos con un punto de maduración adecuado para el consumo, libres de magulladuras. Los mismos que fueron identificados y recolectados en el mes de Julio 2020, en la hacienda Unitica Internacional, administrada por el Sr. Luis Michilena Rodríguez ubicada en la Parroquia Guayllabamba sector Cercobamba perteneciente al cantón Quito en la provincia Pichincha –Ecuador de los cuales a 322 se seleccionaron para

obteniendo el material vegetal en estudio (semillas) y las mismas que fueron analizadas en el laboratorio UBA.

$$n = \frac{Z^2 P Q N}{(N - 1) E^2 + Z^2 P Q}$$
$$n = \frac{1.96^2 * 0.50 * 0.50 * 2000}{(2000 - 1) 0.05^2 + 1.96^2 0.50 * 0.50}$$

$$n = 322$$

En donde:

n= Tamaño de muestra

Z= Valor Z curva normal (1.96)

P= Probabilidad de éxito (0.50)

Q= Probabilidad de fracaso (0.50)

N= Población (2000)

E= Error muestral (0.05)

III.3. Materiales

III.3.1. Materia prima

- Semillas de *Persea americana Mill* variedad *Hass*

III.3.2. Materiales de laboratorio

- Balanza
- Cápsulas de porcelana
- Crisol de porcelana
- Desecador
- Frascos de vidrio ámbar 1000 cc
- Frascos de vidrio ámbar 500 cc
- Espátula

- Frascos de vidrio
- Gradilla
- Matraz Erlenmeyer
- Mortero
- Papel absorbente
- Papel aluminio
- Papel filtro libre de cenizas
- Pinza para mufla
- Pipetas de 1 mL
- Pipetas de 5 mL
- Probeta de 100 mL
- Tubos de ensayo
- Vaso de precipitación (400 mL)
- Vaso de precipitación (50 mL)
- Vidrio reloj

III.3. Equipos

- Balanza analítica
- Molino
- Estufa



Ilustración 6. Balanza Analítica
Fuente: Laboratorio Análisis de Alimentos FCQ -UG



Ilustración 7. Estufa
Fuente: Laboratorio Análisis de Alimentos FCQ -UG

III.3.4. Reactivos

- Ácido Clorhídrico 10%
- Ácido Clorhídrico conc.
- Ácido Clorhídrico 1%
- Ácido Ascórbico
- Etanol
- Hexano
- Cloroformo
- Hidróxido de sodio 5%
- Hidróxido de Potasio 10%
- Cloruro Férrico 5%
- Acetato de sodio 5%
- Reactivo Baljet
- Reactivo Kedde
- Reactivo Wagner
- 1,1-difenil-2-picril-hidrazil (DPPH)
- Ácido ascórbico D-6100 Darmstadt pro-analysis.

III.4. Metodología de procesos

III.4.1. Operaciones preliminares del material vegetal

Recepción y limpieza: Los frutos fueron colocados en un lugar fresco evitando que alcance temperaturas internas superiores a 26°C, a continuación, se procedió a lavar con agua destilada para eliminar residuos y suciedad. Cabe destacar que si el procesamiento del fruto no puede realizarse de forma inmediata esta debe ser conservada a temperatura entre 10°C y 15°C, para frenar los procesos de maduración del fruto.

Clasificación y despulpamiento: Se seleccionó la materia vegetal en buen estado eliminando aquellos que presentan signos de abolladuras o partes deterioradas y se procede a la remoción cuidadosamente de la pulpa de su semilla de manera manual.

Secado: Colocar las semillas en una plancha de papel aluminio a estufa a una temperatura adecuada de 60°C por un periodo de 12 horas por 3 días. Transcurrido el tiempo estimado de secado del material vegetal se deja enfriar a una temperatura no mayor a 26°C y se transfiere la materia prima en frascos totalmente sellados libre de humedad.

Percepción de la materia prima: Se refiere a la evaluación de las características más relevante de las semillas como son: Características físicas (forma, dimensión, dureza, peso), color, olor y peculiaridades.

Molienda: Una vez secado el material vegetal se procedió a la molienda de las semillas en mortero de cerámica hasta llegar a polvo fino.

Pesado: Con la ayuda de una balanza, pesar los envases que contienen el polvo y anotar los valores.

Almacenamiento: El acondicionamiento deberá ser tal manera que garantice una protección conveniente de la materia prima. Los materiales utilizados en el interior del envase deberán ser nuevos, limpios y de una composición que no pueda causar alteraciones. Los envases deberán estar exentos de cualquier cuerpo extraño.

Todos los procedimientos referidos a continuación están basados en el Manual de prácticas de laboratorio farmacognosia y productos naturales descrito por (Miranda, 2006)

III.4.2. Determinación de los parámetros de calidad

III.4.2.1. Características macroscópicas

Se describe las características macroscópicas de las semillas tales como: forma, textura, color, olor, dimensiones, condición. Macroscópicamente la semilla de *Persea americana Mill* está compuesta de tres capas correspondientes a cubierta seminal, cotiledones y eje embrionario.

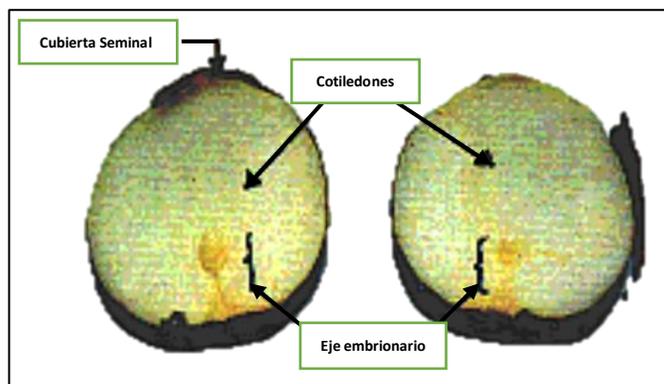


Figura 7 Semilla de aguacate *Persea americana Mill.* variedad Hass Cubierta seminal, cotiledones y eje
Fuente: (Evans, 2009)

III.4.2.2. Parámetros físico-químicos aplicados a las semillas

III.4.2.2.2. Ensayo de humedad

Pesar 2 g de muestra de semillas pulverizada en cápsula de porcelana limpia y seca previamente tarada, trasladar a la estufa y desecar a 130 °C por 3 horas hasta masa constante, dejar enfriar a temperatura ambiente, pesar y repetir el proceso por triplicado hasta masa constante en intervalos de 30 minutos. (ISO 771, 2014)

Calcular la humedad con la siguiente formula:

Formula:

$$H(\%) = a - \frac{b}{p} \times 100$$

Dónde:

- a: peso del recipiente con la muestra húmeda. (g)
- b: peso del recipiente con la muestra seca. (g)
- p: peso de la muestra tomada fresca.

III.4.2.2.2. Ensayo de cenizas totales

Pesar 2 g de muestra desecada, transferirla a un crisol previamente tarado y someterlo a incineración en una mufla a una temperatura de 700 a 750 °C durante 2 horas. Una vez transcurrido el tiempo enfriar el crisol en un desecador y pesar, repetir el proceso por triplicado hasta masa constante en intervalos de 30 minutos. (Miranda, 2006)

Calcular las cenizas totales con la siguiente fórmula:

Formula:

$$Ct = W - \frac{Wo}{p} \times 100$$

Dónde:

- W: peso del crisol con ceniza.
- Wo: peso del crisol vacío.
- P: peso de la muestra.

III.4.2.2.3. Cenizas insolubles en agua

En el crisol donde se realiza el ensayo de cenizas totales, se agrega de 10 a 20 ml de agua destilada llevándolo a ebullición durante 10 minutos. Luego con papel libre de cenizas se filtra realizando lavados del crisol hasta que no queden cenizas. Terminado de filtrar se coloca el papel en un crisol nuevamente y se incinera en la

mufla a 600°C aproximadamente durante 4 horas, pasado este tiempo se coloca en un desecador y una vez frio pesar. (Miranda, 2006)

Formula:

$$\% \text{ de cenizas insolubles en agua} = \frac{m_2}{m_1} \times 100$$

Donde:

- **m1:** Peso de la muestra.
- **m2:** Peso de cenizas tratadas en agua.

III.4.2.2.4. Ensayo de cenizas insolubles en ácido

En el crisol que contiene las cenizas totales, se le adiciona 20 gotas de HCl al 10%, se tapa el crisol con vidrio reloj y se calienta a baño María durante 10 minutos, transcurrido el tiempo lavar el vidrio reloj con 5 mL de agua destilada caliente, filtrar a través de un papel filtro libre de cenizas. El filtrado con el residuo se deseca a 105°C, se transfiere al crisol inicial para incineración en la mufla a 750 °C por 3 horas, dejar enfriar en desecador al menos 20 minutos y pesar. (Miranda, 2006)

Calcular el porcentaje de cenizas insolubles en ácido se utiliza la siguiente expresión:

Formula:

$$\% \text{ de cenizas insolubles en ácido} = \frac{m_2}{m_1} \times 100$$

Donde:

- **m1:** Peso de la muestra.
- **m2:** Peso de cenizas tratadas en ácido.

III.4.2.2.5. Ensayo de sustancias solubles

Método de extracción en caliente con etanol, hexano y acetato de etilo

- Pesar en un matraz Erlenmeyer aproximadamente 4 g de muestra. Agregar 100 mL del disolvente especificado en el procedimiento, pesar, agitar y dejar reposar por 1 hora.
- Acople un condensador de reflujo al matraz y hervir suavemente por 1 hora. Enfriar y pesar, a continuación, ajustar al peso inicial con el disolvente; agitar y filtrar por succión a través de un filtro seco.
- Transferir 25 mL de filtrado a una cápsula de porcelana, evaporar hasta sequedad en un baño María. Secar en estufa a 105 °C durante 2 horas, enfriar en un desecador durante 30 minutos, luego pesar sin demora. (Miranda, 2006)

El contenido de materia extraíble se calcula mediante la expresión:

Formula:

$$\text{Sustancias solubles} = \frac{R}{M} \times 100$$

Donde:

- **R:** Residuo de la muestra
- **M:** Masas de muestra ensayada.

III.4.3. Preparación del extracto

Se tomará las semillas *Persea americana Mill* variedad *Hass* previamente lavadas y secadas, posteriormente se procede a molerlas hasta llegar a su parte

más fina. Cuando la muestra se encuentre completamente seca y libre de humedad, se realiza la extracción etanólica con ayuda de un Soxhlet, donde se deja realizar un mínimo de ocho sifones para su posterior retiro de la muestra. El extracto líquido de la muestra de semilla *Persea americana Mill* se someterá a rota evaporación donde se extraerá la mayor cantidad de etanol para que la muestra se concentre. (Miranda, 2006)

III.4.4. Identificación de los metabolitos secundarios

Ensayo de Sudan

En un tubo de ensayo colocar una alícuota del extracto del material vegetal, agregar 1 mL de la solución de Sudán y llevar a baño de agua hirviendo hasta evaporación del solvente, la presencia de una película o gotas de color rojo en la superficie del tubo es indicativo de un ensayo positivo para compuestos grasos. (Miranda, 2006)

Ensayos de Dragendorff, Mayer

Son pruebas cualitativas que permiten identificar la presencia de alcaloides, para ello, si el extracto es acuoso se deberá agregar para cada ensayo una alícuota del extracto previamente acidificada con 1 a 2 gotas de HCl concentrado y llevar a calentar, mientras, que si el extracto se realizó con solventes orgánicos se procederá a evaporar y el residuo redisolverse con 1 mL de HCl al 1 % en agua, por último añadir 3 gotas del reactivo específico; la presencia de opalescencia se considera (+), turbidez definida (++) , precipitado (+++). (Miranda, 2006)

Ensayo de Borntrager.

Tomar una alícuota del extracto disuelto en cloroformo adicionar 1 mL de solución de hidróxido de sodio al 5 %, agitar mezclando las fases y reposar. Si la fase acuosa

alcalina se torna rosada o roja el ensayo se considera positivo para quinonas. (Miranda, 2006)

Ensayo de Liebermann- Burchard.

Permite reconocer en un extracto la presencia de triterpenos y/o esteroides por ambos tipos de productos poseer un núcleo del androstano, generalmente insaturado en el anillo B y la posición 5-6. A una alícuota del extracto disuelto en cloroformo adicionar 1 mL de reactivo, y a continuación observar el cambio rápido de coloración: Rosado azul (muy rápido); Verde intenso (visible, aunque rápido); Verde oscuro (final de la reacción). (Miranda, 2006)

Ensayo de cloruro férrico

Permite reconocer la presencia de compuestos fenólicos y/ o taninos en un extracto vegetal, por ello, si el extracto es alcohólico a una alícuota de este se le adicionan 3 gotas de cloruro férrico al 5 % en solución salina fisiológica. Si el extracto es acuoso a una alícuota del extracto se añade acetato de sodio para neutralizar y 3 gotas de tricloruro férrico al 5 % en solución salina fisiológica, un ensayo positivo puede sugerir la presencia de: Compuestos fenólicos (Rojo-vino); taninos de tipo pirocatecólicos (verde intenso), taninos del tipo piro pirogalotánicos (azul). (Miranda, 2006)

Ensayo Shinoda.

Exclusivo para la identificación de flavonoides en un extracto de un vegetal. Si la alícuota del extracto se encuentra el alcohol, se diluye con 1 mL de ácido clorhídrico concentrado y un pedacito de cinta de magnesio metálico. Después de la reacción se espera 5 minutos, se añade 1 mL de alcohol amílico, se mezclan las bases y se deja reposar hasta que se separen. (Miranda, 2006)

Ensayo de gelatina salada

Adicionar el reactivo de gelatina-sal a una alícuota de la fracción de estudio en una cantidad igual a la mitad de la misma. El ensayo se considera positivo si aparece un precipitado blanco floculento. (Miranda, 2006)

Ensayo de espuma

Permite identificar la presencia de saponinas, tanto en tipo esteroidal como triterpénica. Diluir una alícuota de la fracción, disuelta en alcohol, con 5 veces su volumen de agua y agitar fuertemente durante 5-10 minutos. El ensayo se considera positivo si aparece espuma en la superficie del líquido, de más de 2 mm de altura que persista por más de 2 minutos. (Miranda, 2006)

Ensayo de Baljet

Permite reconocer la presencia de compuestos con agrupamiento lactónico como las curaminas. El desarrollo de una coloración y precipitado rojo al agregar 1 mL del reactivo de Baljet sobre 1 mL de la muestra, indica la presencia de estos compuestos. (Miranda, 2006)

Reacción de Kedde

A una alícuota de la fracción en estudio adicionar 0,5mL del reactivo de Kedde y 3-4 gotas de hidróxido de potasio al 10% en etanol. La reacción se considera positiva si existe el desarrollo de una coloración púrpura muy estable. (Miranda, 2006)

Ensayo de Wagner

A una alícuota de la fracción acuosa añadir 1 gota de ácido clorhídrico concentrado (calentar suavemente y dejar enfriar). Adicionar 2-3 gotas de reactivo

de Wagner. La aparición de opalescencia, turbidez y/o precipitado indica un ensayo positivo. (Miranda, 2006)

Tabla III Criterios de interpretación de pruebas cualitativas

+++	Abundante
++	Moderado
+	Medianamente escaso
+/-	Escaso
-	Nada

III.4.5. Determinación de la Capacidad antioxidante por el método de DPPH

Extracción de muestra: Al material sólido sin grasa se adiciona etanol para extraer compuestos de alta polaridad durante 48 horas, se filtra con la finalidad de obtener extracto etanólico. (Rivas, 2016)

Preparación de DPPH: Se pesa 3 mg de DPPH y se lo lleva a un volumen de 50 ml con etanol en un matraz volumétrico.

Preparación de solución patrón: Se realiza una solución patrón de ácido ascórbico de 1000 ppm, pesando 49 mg de DPPH y llevándolo a un volumen de 250 mL con etanol al 96% en un matraz volumétrico, luego se realiza 7 diluciones del patrón a diferentes concentraciones (2,4,10,20,40,100,160 mg/L), se las lleva a un volumen de 10 mL con etanol.

Cada vial debe permanecer en la oscuridad, se agrega 200uL de las respectivas diluciones y 2 ml de DPPH, se agita deja reposar durante 30 minutos,

posteriormente se hace las respectivas lecturas a 517 nm en el espectrofotómetro UV, siendo el etanol el blanco; se realiza la curva de calibración del ácido ascórbico.

Preparación de la muestra: Se realiza una solución con la muestra problema, pesando 10 mg de muestra y diluyéndola con etanol a un volumen de 10 mL en matraz volumétrico obteniéndose una concentración de 1g/L, se realiza la lectura a 517 nm en espectrofotómetro UV.

Mediante la siguiente ecuación se calcula el % de inhibición de la muestra frente al DPPH.

Formula:

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{\text{Abs.Inicial} - \text{Abs.Final}}{\text{Abs.Final}} \times 100$$

Porcentaje de Inhibición, frente al DPPH

Donde:

- % inhibición = Porcentaje de inhibición del radical DPPH provocado por la muestra evaluada.
- Abs.Inicial = Absorbancia a 517 nm de la concentración inicial del DPPH.
- Abs.Final= Absorbancia a 517 nm de la concentración final del DPPH.

CAPITULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES

En este capítulo se expondrán mediante tablas, los resultados de los diferentes análisis experimentales que se realizaron a las semillas *Persea americana Mill.* Variedad *Hass*

IV.1. Características macroscópicas

El fruto fue recolectado de forma manual y posteriormente se realizó la limpieza, clasificación y despulpamiento a la materia prima. Una vez obtenida la muestra del material vegetal objeto de estudio se procedió a realizar el ensayo de percepción y a su vez el secado y almacenamiento.

Tabla IV Características macroscópicas de las semillas del fruto *Persea americana Mill* variedad *Hass*

Características		Semilla
Olor		Sui generis
Color		Pardo claro
Forma		Ovaladas
Dimensiones	Valor promedio Largo (cm)	11.5
	Valor promedio ancho (cm)	8.0
Peso (g)		46.5
Condición		Fresca
Peculiaridades		Aceitoso al tacto

Elaborado por: Coello & Saltos, 2020

IV.2. Parámetros físico- químicos aplicados a las semillas

IV.2.1. Humedad

La determinación de Humedad se llevó a cabo mediante desecación en estufa que utiliza la pérdida de peso de la muestra para calcular el contenido de agua presente en la muestra.

Los resultados de las muestras por triplicado de semillas de *Persea americana Mill* se encuentran descritos en la tabla IV, obteniéndose 12,2363%

Tabla V Porcentajes de Humedad de semillas del fruto *Persea americana Mill* variedad Hass

N° de muestras	Porcentaje (%)
1	12,2470
2	12,2259
3	12,2360
Promedio	12,2363
Desviación estándar	1.1137 x10 ⁻⁴

Elaborado por: Coello & Saltos, 2020

IV.2.2. Cenizas

El porcentaje de cenizas totales obtenidos de las semillas de *Persea americana Mill* variedad Hass fue de 5,25% el mismo que se encuentra dentro de los valores establecidos por la USP 28, cuando el porcentaje de cenizas totales superan los valores normales se sugiere la presencia de sustancias inorgánicas

El porcentaje de cenizas solubles en agua que corresponde al contenido orgánico, en este caso la especie vegetal posee un 2.8% valor que se encuentra dentro de las especificaciones de la USP 28

Las cenizas insolubles en ácido clorhídrico en la especie vegetal, tiene un contenido de 1.14% valor que se encuentra dentro de las especificaciones establecidas en la USP 28, asimismo nos indica que la especie vegetal se encuentra exenta de la presencia de arena o tierra ya que no supera el 5%.

Tabla VI Porcentaje de Cenizas Totales de las semillas del fruto *Persea americana Mill*

N° de Muestras	Porcentaje de Cenizas Totales (%)	Porcentaje de Cenizas Insolubles en Agua (%)	Porcentaje de Cenizas Insolubles en Acido (%)
1	5,26%	2,9%	1,15%
2	5,25%	2,8%	1,14%
3	5,24%	2,7%	1,13%
Promedio	5,25%	2.8%	1.14%
Desviación estándar	1 x10-4	0.01	1 x10-4

Elaborado por: Coello & Saltos, 2020

IV.3. Identificación de los metabolitos secundarios

Tabla VII Resultados para la identificación de metabolitos secundarios en la semilla

Fraccionamiento	Fracción	Tipo de Ensayo	Metabolito ensayado	Semilla		
				Resultado	Observaciones	
Primero	Hexano	Lieberman-Burchard	Triterpenos y /o esteroides	+	Coloración rápida de rosado a azul	
		Baljet	Lactonas y coumarinas	-	No hay cambio de coloración o aparición de precipitado rojo	
		Sudán	Aceites y grasas	-	No hay cambio de color o aparición de precipitado	
	Acuosa	Espuma	Saponinas	+++	Formación de espuma persistente por más de 5 min	
		Shinoda	Flavonoides	-	No formación de espuma ni cambio evidente de color	
		Borntrager	Quinonas	+++	Presencia de coloración roja	
		Kedde	Glicósidos cardiotónicos	-	No hay presencia del color violáceo	
		Cloruro Férrico	Fenólicos y/o taninos	+++	Color verde intenso	
		Cloroformo	Mayer	Alcaloides	+	Presencia de opalescencia

	Cloruro de Sodio	Wagner	Alcaloides	-	No hubo cambio de color, precipitado o turbidez
		Gelatina	Fenólicos y/o taninos	-	No hay cambio de color o turbidez
		Cloruro Férrico	Fenólicos y/o taninos	-	No cambio apreciable de coloración
Segundo	Hexano	Lieberman-Burchard	Triterpenos y/o esteroides	+	Coloración rápida de rosado a azul
		Baljet	Lactonas y coumarinas	-	No hay cambio de coloración o aparición de precipitado rojo
		Sudán	Aceites y grasas	+	Aparición de gotas de color rojo
	F. Butanol	Espuma	Saponinas	-	No hubo presencia de espuma persistente.
	F. Éter Dietílico	Cloruro Férrico	Fenólicos y/o taninos	+	Formación de color violeta
		Shinoda	Flavonoides	+++	Formación de color naranja intenso
		Borntrager	Quinonas	+	Ligera presencia de color rojo
		Kedde	Glicósidos cardiotónicos	-	No hay presencia del color violáceo

Tercero	F. Acetato de Etilo 1	Baljet	Lactonas y coumarinas	-	No hay cambio de coloración o aparición de precipitado rojo
		Lieberman-Burchard	Triterpenos y /o esteroides	-	No hubo cambio de color de rosado a violáceo
		Sudán	Aceites y grasas	+	Aparición de gotas de color rojo
	F. Acetato de Etilo 2	Mayer	Alcaloides	+	Presencia de opalescencia
		Wagner	Alcaloides	+	Presencia de opalescencia
	F. Acuosa	Mayer	Alcaloides	+	Presencia de opalescencia
		Wagner	Alcaloides	-	No Hubo presencia de opalescencia, turbidez o coloración

Fuente: (Tigrero, 2018)

Mediante las pruebas realizadas se identificaron los grupos de compuestos presentes en las semillas *Persea americana* Mill variedades Hass tales como: taninos, fenoles, flavonoides, y en menor cantidad saponinas y alcaloides, como podemos ver no todas las fracciones contienen los mismos grupos fitoquímicos, teniendo una diferencia significativa en las pruebas realizadas.

IV.4. Evaluación de la actividad antioxidante a través del método DPPH

IV.4.1. Preparación del Radical DPPH

La evaluación de la actividad antioxidante se realizó mediante el método DPPH, se preparó una solución patrón de 2,2-difenil-1-picril hidrazilo (DPPH) en metanol, se pesó 3 mg del reactivo y llevó a aforó a 50 ml, se conservó en la oscuridad para alrededor de 15 min hasta su posterior uso. Se realizó un barrido espectral con la solución preparada, la longitud de onda con la que se trabajo fue de 517 nm, la absorbancia del DPPH fue de 2,1679.

IV.4.2. Curva de Calibración

- La curva de calibración se realizó con una solución de Ácido ascórbico de 1000 ppm
- Se pesó 49 mg de DPPH y se aforó a 250 mL con etanol al 96%
- Se agregó en cada tubo de ensayo los valores indicados en la tabla VIII
- Se cubrió de papel aluminio a los tubos y se sometieron a agitación constante de 200 rpm durante 30 min.
- Transcurrido ese tiempo se midieron las absorbancias a 517 nm

Tabla VIII Datos de la curva de calibración del ácido ascórbico

	CONCENTRACIÓN (ul)	DPPH	ETANOL 96%
B	-----	5.8 ml	200 ul
1	2	5.8 ml	198 ul
2	4	5.8 ml	196 ul
3	10	5.8 ml	190 ul
4	20	5.8 ml	180 ul
5	40	5.8 ml	160 ul
6	100	5.8 ml	100 ul
7	160	5.8 ml	40 ul

Elaborado por: Coello & Saltos, 2020

Tabla IX Datos de la sustancia patrón (ácido ascórbico)

ESTÁNDAR	VOLUMEN (ul)	ABSORBANCIA	CONCENTRACIÓN	%
1	2	1,725	1.75	20,43
2	4	1.666	4,30	23,15
3	10	1,656	6,49	23,61
4	20	1,499	28,01	30,85
5	40	1,341	43,98	38,14
6	100	0,729	96,82	66,37
7	160	0,143	153,55	93,40

Elaborado por: Coello & Saltos, 2020

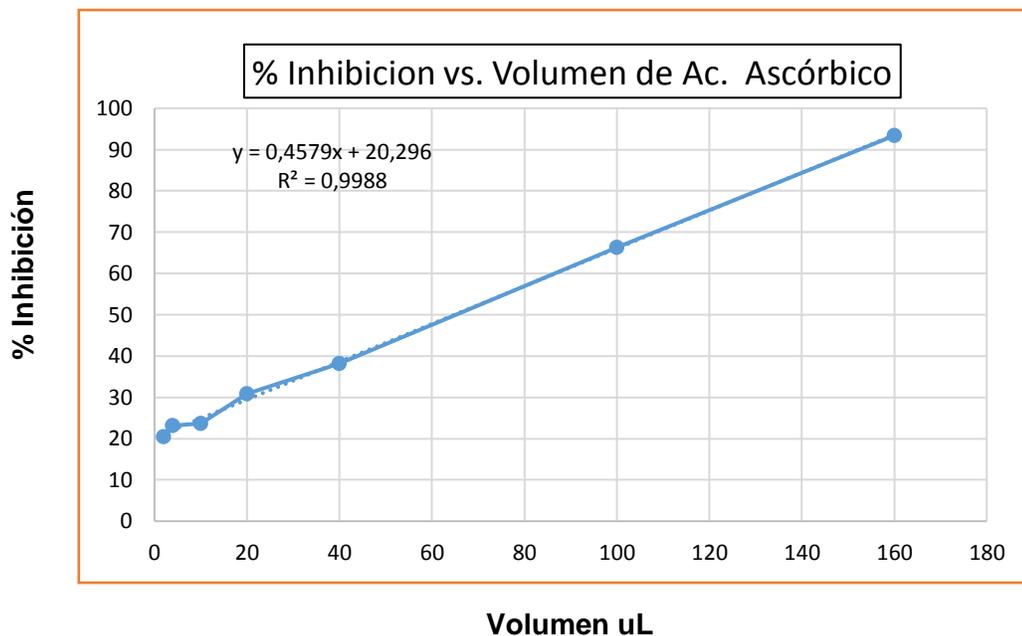


Figura 8 Curva del estándar del ácido ascórbico

Elaborado por: Coello & Saltos, 2020

Tabla X Resultado en porcentajes de semilla Persea americana Mill para el extracto acuoso

	VOLUMEN (ul)	ABSORBANCIA	CONCENTRACIÓN (mg/mL)	%
1	2	0,257	72,85	88,15
2	4	0,185	143,15	91,47
3	10	0,169	364,37	92,20
4	20	0,165	725,74	92,38
5	40	0,163	1445,48	92,48
6	100	0,149	3703,71	93,12
7	160	0,150	5865,94	93,08

Elaborado por: Coello & Saltos, 2020

EXTRACTO ACUOSO

Formula aplicada:

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{\text{Abs.Inicial} - \text{Abs.Final}}{\text{Abs.Final}} \times 100$$

Volumen 2uL

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{2.1679 - 0.257}{2.1679} \times 100$$

% Inhibición = 88.15

Volumen 4uL

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{2.1679 - 0.185}{2.1679} \times 100$$

% Inhibición = 91.47

Volumen 10uL

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{2.1679 - 0.169}{2.1679} \times 100$$

% Inhibición = 92.20

Volumen 20uL

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{2.1679 - 0.165}{2.1679} \times 100$$

% Inhibición = 92.38

Volumen 40uL

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{2.1679 - 0.163}{2.1679} \times 100$$

% Inhibición = 92.48

Volumen 100uL

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{2.1679 - 0.149}{2.1679} \times 100$$

% Inhibición = 93.12

Volumen 160uL

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{2.1679 - 0.150}{2.1679} \times 100$$

% Inhibición = 93.08

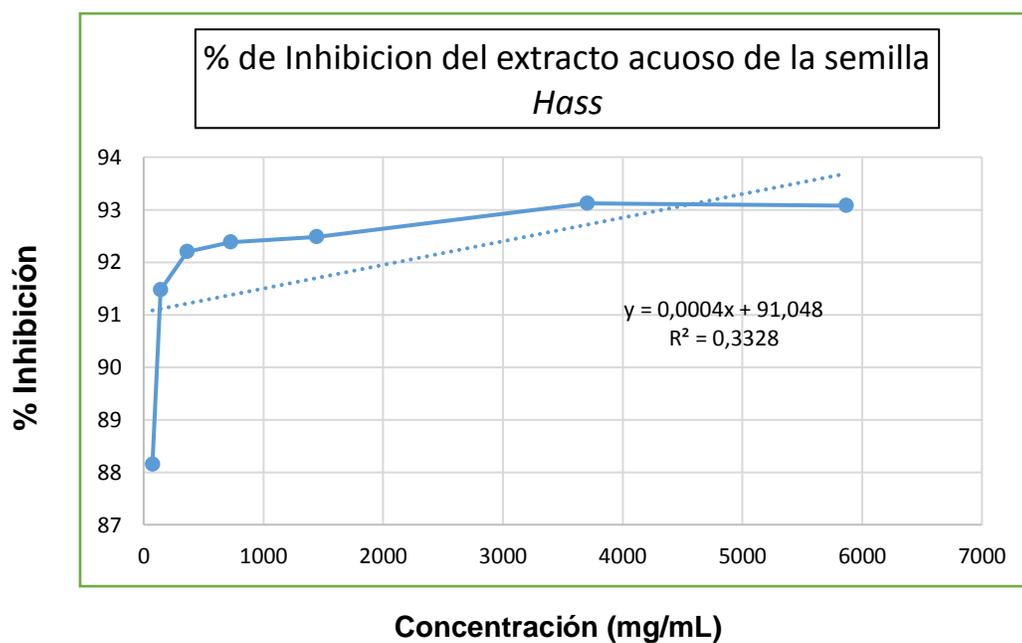


Figura 9 Curva del % de inhibición de la semilla Hass

Elaborado por: Coello & Saltos, 2020

Tabla XI Resultado en porcentajes de semilla *Persea americana* Mill para el extracto etanólico.

	VOLUMEN (ul)	ABSORBANCIA	CONCENTRACIÓN (mg/mL)	%
1	2	1,995	3.13	7,98
2	4	1,935	6,25	10,74
3	10	1,829	15,63	15,63
4	20	1,815	31,26	16,27
5	40	1,508	62,53	30,43
6	100	1,248	156,32	42,43
7	160	1,155	250,11	46,72

Elaborado por: Coello & Saltos, 2020

EXTRACTO ETANÓLICO

Formula aplicada:

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{\text{Abs.Inicial} - \text{Abs.Final}}{\text{Abs.Final}} \times 100$$

Volumen 2uL

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{2.1679 - 1.995}{2.1679} \times 100$$

% Inhibición = 7.98

Volumen 4uL

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{2.1679 - 1.935}{2.1679} \times 100$$

% Inhibición = 10.74

Volumen 10uL

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{2.1679-1.829}{2.1679} \times 100$$

% Inhibición =15. 63

Volumen 20uL

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{2.1679-1.815}{2.1679} \times 100$$

% Inhibición =16. 27

Volumen 40uL

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{2.1679-1.508}{2.1679} \times 100$$

% Inhibición =30. 43

Volumen 100uL

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{2.1679-1.248}{2.1679} \times 100$$

% Inhibición =42. 43

Volumen 160uL

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{2.1679-1.155}{2.1679} \times 100$$

% Inhibición =46. 72

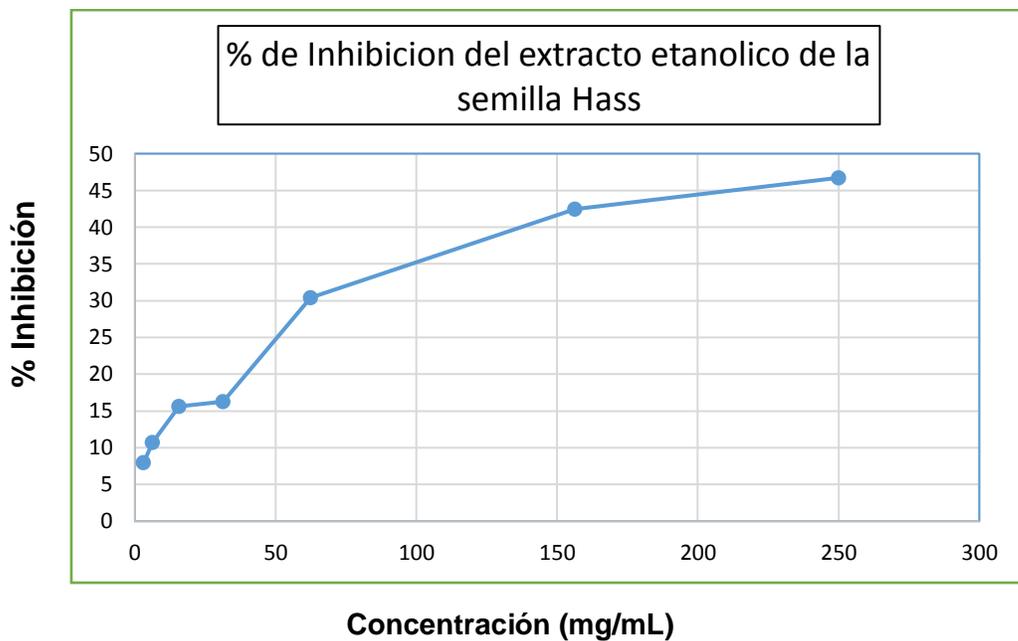


Figura 10 Curva del % de inhibición de la semilla Hass

Elaborado por: Coello & Saltos, 2020

Según los resultados obtenidos en la Figura 9 y Figura 8, que refleja la concentración en mg/mL de la inhibición. Podemos decir que el % de inhibición del extracto acuoso de la variedad *Hass* fue quien presentó un mayor poder de inhibición frente al DPPH en comparación con el estándar establecido que es el ácido ascórbico.

DISCUSIÓN

Las semillas de *Persea americana Mill* se destaca por ser de forma ovoide, redonda o cónica, de 5 a 6.4 centímetros de largo, dura y pesada, de color marfil rosado, envuelta en dos capas como papeles de color café; frecuentemente adheridas a la cavidad pulposa, mientras la semilla sale fácilmente. Algunos frutos no tienen semilla por falta de polinización u otros factores. (Bernal & Díaz, 2008)

Las cenizas totales reflejan presencia de minerales presentes en la planta, los cuales son absorbidos de los suelos. En la USP 28 Farmacopea, señala porcentajes de cenizas hasta un 5 %, en dependencia del órgano vegetal estudiado. En los estudios realizados los valores de cenizas totales están dentro de los rangos permitidos para droga vegetal.

Para las cenizas insolubles, que fundamentalmente reflejan la presencia de metales pesados, En la USP 28 Farmacopea plantean valores no mayores de un 2 %, para la especie estudiada resulta de gran relevancia el porcentaje de cenizas insoluble en ácido.

El trabajo realizado fue comparado con (Tigrero, 2018), en el cual realiza el ensayo de cenizas en la semilla *Persea americana Mill*, donde los resultados 2,283 % entrando en el rango establecido por la USP 28 Farmacopea

CAPITULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

V.1. Conclusiones

En el presente trabajo de titulación se caracterizó a la semilla de aguacate (*Persea americana*) de la variedad Hass, y se extrajo un extracto total y se identificó la actividad antioxidante. Se evaluó parámetros de calidad, composición química y la actividad antioxidante de las semillas de aguacate (*Persea americana Mill*) variedad Hass y con los resultados obtenidos se puede concluir que contiene 12,23% de humedad, 5,25% de cenizas totales, 2,8% de Cenizas insolubles en agua, 1,14 % de cenizas insolubles en ácido.

Se logró identificar los metabolitos secundarios presentes en cada fracción de la variedad Hass, mediante ensayos fitoquímicos siendo los fenoles, taninos, flavonoides, saponinas y quinonas abundantes (+++) en el primero y segundo fraccionamiento,

Posteriormente se evaluó la actividad antioxidante mediante el método DPPH frente a la solución patrón (Ácido Ascórbico) en los extractos acuoso y etanólico, presentando con mayor porcentaje de inhibición el extracto acuoso.

El % de inhibición de cada extracto acuoso y etanólico, se analizó y comparó, en el extracto acuoso obtenido en 2 ul un porcentaje de inhibición del 88,15%, en 4 ul un porcentaje de inhibición de 91,47%, en 10 ul un porcentaje de inhibición de 92,20%, en 20 ul un porcentaje de inhibición de 92,38%, en 40 ul un porcentaje de inhibición de 92,48%, en 100 ul un porcentaje de inhibición de 93,12%, en 160 ul un porcentaje de inhibición de 93,08%.

En el extracto etanólico se obtuvo en 2 ul un porcentaje de inhibición del 7,98%, en 4 ul un porcentaje de inhibición de 10,74%, en 10 ul un porcentaje de inhibición de 15,63 %, en 20 ul un porcentaje de inhibición de 16,27%, en 40 ul un porcentaje de inhibición de 30,43%, en 100 ul un porcentaje de inhibición de 42,43%, en 160 ul un porcentaje de inhibición de 46,72%, siendo la fracción acuosa de la variedad Hass la que presenta un porcentaje de inhibición más alto.

V.2. Recomendaciones

- Determinar los compuestos fenólicos de las semillas.
- Evaluar la actividad terapéutica que posee las semillas de aguacate a partir de estudios de fraccionamiento de los constituyentes fitoquímicos de mayor relevancia y así contribuir con el posible desarrollo de nuevos medicamentos de alta efectividad y seguridad.
- Realizar estudios comparativos con semillas de la misma especie.
- Asegurar la eficacia como posible uso alimenticio el aceite de semilla de aguacate (*Persea americana Mill*) variedad *Hass* realizando pruebas toxicológicas.
- Verificar la ausencia de microorganismos patógenos mediante ensayos microbiológicos.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Brody, E. (2015). Oxidative stress in severe acute illness. *Redox biology*, 340-345.
2. Avello, M., & Suwalsky, M. (2006). Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. *SciELO*.
3. Ayala, J., Domínguez, C., & Palafox, H. (2011). Agro-industrial potential of exotic fruit byproducts as a source of food additives. *Food Research International*, 44, 1866-1874.
4. Aymacaña, A. (2018). Caracterización bromatológica de la cáscara de aguacate (*Persea americana*) y posterior extracción e identificación de la fracción con mayor actividad antimicrobiana. *Universidad Central del Ecuador*, 27.
5. Barbat, T. (2006). La multiplicación de las plantas. *Viveros II*, 33.
6. Bernal, J., & Díaz, C. (2008). *Tecnología para el Cultivo del Aguacate*. (Vol. 5). Antioquia, Colombia: CORPOICA.
7. Carlos, B., & Angelina, L. (2015). Preacondicionamiento remoto por isquemia reperfusión en la lobectomía pulmonar. Un estudio sobre la prevención del estrés oxidativo. *RODERIC*, 461-470.
8. Castillo, E. (2015). *Manual de Fitoterapia*. Barcelona, España: Elsevier.
9. Céspedes, M., Rodríguez, C., Llópiz, J., & Cruz, M. (2000). Un acercamiento a la teoría de los radicales libres y el estrés oxidativo en el envejecimiento. *Cubana Invest Bioméd*, 186-190.
10. Dabas, D., Shegog, R., & Ziegler, G. (2013). Avocado (*Persea americana*) Seed as a Source of Bioactive Phytochemicals. *Current Pharmaceutical Desing*, 6133-6140.

11. Devasagayam, T., Bloor, K., & Ramasarma, T. (2003). Methods for estimating lipid peroxidation: an analysis of merits and demerits. *NISCAIR*, 300-308.
12. Evans, W. (2009). *Pharmacopoeial and related drugs of biological origin. Trease and Evans Pharmacognosy* (Decima sexta ed.). Elsevier.
13. Fernández, I. (2018). Aislamiento y semisíntesis de compuestos fenólicos por. *Aislamiento y semisíntesis de compuestos fenólicos por vía química y biocatalítica. Estudio de sus propiedades biológicas.*, 1-242.
14. Gomez, M., Escalera, D., & Rojas, P. (Octubre de 2017). Beneficios de la semilla de Persea americana Mill. (Palta). *Revista de Investigación e Información en Salud*, 12(30).
15. Hurtado, F., Paccharotta, T., & Schoenmaker, D. (2011). Ultra high performance liquid chromatography-time of flight mass spectrometry for analysis of avocado fruit metabolites: method evaluation and applicability to the analysis of ripening degrees. *Journal of Chromatography A*, 7723-7738.
16. INIAP. (2016). Guía Técnica de cultivos. *Revista Científica y Tecnológica UPSE*, III(3), 1-9.
17. ISO 771, N. (2014). Residuos de semillas oleaginosas: determinación del contenido de humedad y materia volátil.
18. Iwa, K. (2018). Iron-dependent oxidation, ubiquitination, and degradation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 4924-4928.
19. Juri, M. (2015). Características Generales de las Paltas. *ODEPA*.
20. Kuskoski, M., & Asuero, A. (2015). Aplicação de diversos métodos químicos para determinar atividade antioxidante em polpa de frutas. *Food Science and Technology*.
21. Miranda, M. (2006). *Farmacognosia y productos naturales: Normas Ramales de drogas crudas, extractos y tinturas* (6 ed.). Habana, Cuba.

22. Moseley, R., Waddington, R., & Embery, G. (2018). Degradation of glycosaminoglycans by reactive oxygen species derived from stimulated polymorphonuclear leukocytes. *Biochimica et Biophysica Acta*, 221-231.
23. Netzer, C. (2008). *El gran libro de las Curas Milagrosas* (Vol. Sexta Edición). Madrid, España: Edaf.
24. Pahuja, M., Ortiz, A., & Chamorro, G. H. (2012). Hypolipidemic effect of avocado (*Persea americana* Mill) seed in a hypercholesterolemic mouse model. *Plant Foods for Human Nutrition*, 67, 10-16.
25. Perez, D. (2016). EVALUACIÓN DEL EFECTO DE TRATAMIENTOS CON SOLVENTES ORGÁNICOS, AGUA Y EL TIEMPO DE EXTRACCIÓN EN EL RENDIMIENTO DE POLIFENOLES TOTALES DE LA HARINA DE SEMILLA DE PALTA (*Persea americana*). *Universidad nacional centro del peru*, 63-64.
26. Pérez, S., Ávila, G., & Coto, O. (2015). El aguacatero (*Persea americana* Mill). *SciELO*, 36(2).
27. Pokorny, J., & Yanishlieva, N. (2015). Antioxidants in Food. Practical Applications. *Woodhead Publishing Ltda*.
28. Rivas, C. O. (2016). Preparación de extractos. Investigación en plantas de importancia médica. *OmniaScience*, 1-40.
29. Romero, L., & Diaz, d. (2016). REPRODUCCION VEGETATIVA O ASEXUAL DEL AGUACATE. *California Avocado Society*, 171-174.
30. Sayari, N. S. (2015). Antioxidant and antibacterial properties of Citrus paradisi barks extracts during turkey sausage formulation and storage. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 616-623. doi:<https://doi.org/10.1016/J.BCAB.2015.10.004>
31. Tigrero, S. (2018). Caracterización bromatológica de la semilla de aguacate (*Persea americana*) y extracción e identificación de la fracción con mayor actividad antimicrobiana. *Universidad Central del Ecuador*, 27.

32. Triguero, S. (2018). Caracterización bromatológica de la semilla de aguacate (*Persea americana*) y extracción e identificación de la fracción con mayor actividad antimicrobiana. *UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR*, 55-57.
33. Vélez, M., & Campos, R. (2014). USE OF PLANT SECONDARY METABOLITES TO REDUCE RUMINAL. *Tropical and Subtropical Agroecosystems* .
34. Wanasundara, P., & Shahidi, F. (2015). Antioxidants: Science, Technology, and Applications. *J Food Sci Technol*, 431-489.

GLOSARIO

Actividad Antioxidante: Es la capacidad de una sustancia para inhibir la degradación oxidativa de tal forma en que un antioxidante actúa, esencialmente, gracias a su capacidad para reaccionar con radicales libres y, por ende, recibe el nombre de antioxidante terminador de cadena.

Cloroformo: El triclorometano, cloroformo o tricloruro de metilo, es un compuesto químico de fórmula química CHCl_3 incoloro, de olor agradable, que resulta de la combinación de cloro y ácido fórmico.

Espectrofotómetro: Instrumento empleado para determinar a qué longitud de onda la muestra absorbe la luz y la intensidad de la absorción.

Etnobotánica: Es aquella ciencia que se encarga del estudio de las relaciones entre los humanos y su entorno vegetal, tanto en su uso y el modo de aprovecharlas.

Fitoquímico: Son elementos químicos que se encuentran presentes de manera natural en los alimentos de origen vegetal. Sus beneficios para la salud especialmente por poseer poder antioxidante.

Macroscópica: La estructura macroscópica se encarga del estudio de los órganos o partes del cuerpo bastantes grandes como para que se puedan observar a simple vista y sin la necesidad del uso de un microscopio.

Metabolitos secundarios: Son moléculas orgánicas que no parecen tener una función directa en procesos fotosintéticos, respiratorios, asimilación de nutrientes, transporte de solutos o síntesis de proteínas, carbohidratos o lípidos.

Mufla: Un horno que puede generar elevadas temperaturas y sirve para calentar materiales que son sometidos a distintos procesos de tratamiento térmico. Estos hornos muflas son utilizados en varias aplicaciones; así, en la metalurgia, secado y calcinación de precipitados, ensayos de flamabilidad a alta temperatura, aleaciones de metal, templado, ensayos de fundición y otras que necesitan de un tratamiento por calor.

Oxidación: Es el grado de oxidación de un átomo, el cual se genera en procesos celulares internos, que conllevan la aparición de enfermedades.

Radicales libres: Es una molécula que se produce cada día en nuestro organismo como resultado de las reacciones biológicas que se producen en las células. Los radicales libres son moléculas muy reactivas, necesarias para realizar determinadas funciones y mantener el estado de salud.

ANEXOS

Anexo 1. Operaciones preliminares a las semillas *Persea americana* Mill variedad Hass.

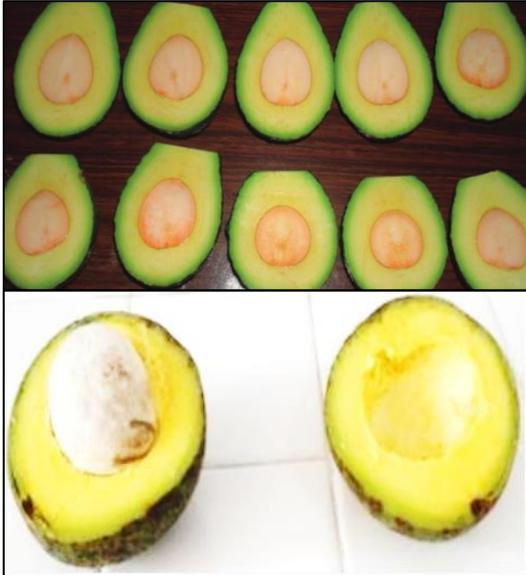


Ilustración. 2 Fruto *Persea americana* Mill variedad Hass.

Fuente: Coello & Saltos, 2020



Ilustración. 1 Pesaje de las semillas de *Persea americana* Mill variedad Hass.

Fuente: Laboratorio de Análisis de Alimentos FCQ-UG



Ilustración. 4 Lavado de las semillas *Persea americana* Mill variedad Hass.

Fuente: Laboratorio de Análisis de Alimentos FCQ-UG



Ilustración. 3 Eliminación de restos de pulpa de las semillas *Persea americana* Mill variedad Hass.

Fuente: Fuente: Laboratorio de Análisis de Alimentos FCQ-UG



Ilustración. 6 Estufa para el secado de las semillas Persea americana Mill variedad Hass.

Fuente: Laboratorio de Análisis de Alimentos FCQ-UG



Ilustración. 5 Secado en la estufa de las semillas Persea americana Mill variedad Hass.

Fuente: Laboratorio de Análisis de Alimentos FCQ-UG



Ilustración. 8 Semillas secas Persea americana Mill variedad Hass.

Fuente: Laboratorio de Análisis de Alimentos FCQ-UG



Ilustración. 7 Molienda de las semillas Persea americana Mill variedad Hass.

Fuente: Laboratorio de Análisis de Alimentos FCQ-UG



Ilustración. 9 Semillas *Persea americana* Mill variedad Hass. molidas.

Fuente: Fuente: Laboratorio de Análisis de Alimentos FCQ-UG



Ilustración. 10 Almacenamiento de Semillas *Persea americana* Mill variedad Hass.

Fuente: Fuente: Laboratorio de Análisis de Alimentos FCQ-UG

Anexo 2. Determinación de los parámetros de calidad a las semillas *Persea americana* Mill variedad Hass.

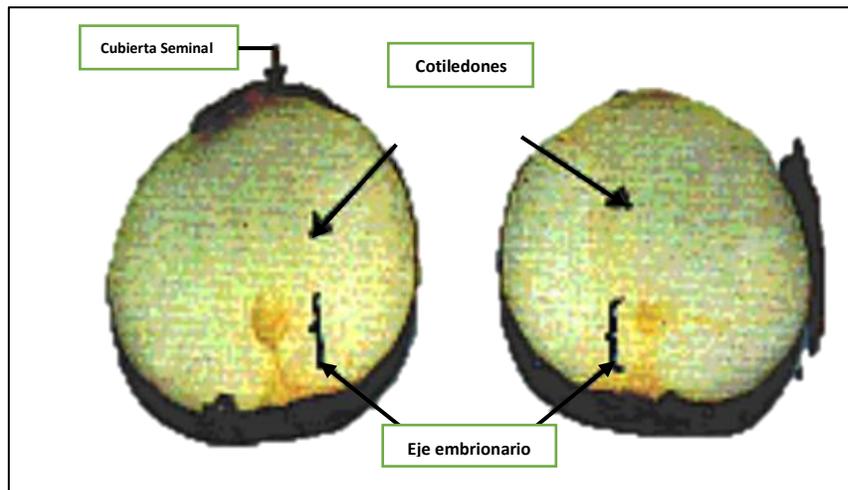


Ilustración. 11 Características macroscópicas de las semillas *Persea americana* Mill variedad Hass.

Fuente: Coello & Saltos, 2020

HUMEDAD



Ilustración. 13 Pesaje de muestra para el ensayo de humedad.

Fuente: Laboratorio de Análisis de Alimentos FCQ-UG



Ilustración. 12 Humedad realizada a las semillas *Persea americana* Mill variedad Hass.

Fuente: Laboratorio de Análisis de Alimentos FCQ-UG

DETERMINACIÓN DE CENIZAS TOTALES



Ilustración. 14 Muestras para cenizas

Fuente: Laboratorio de Análisis de Alimentos FCQ-UG



Ilustración. 15 Muestras de semillas *Persea americana* Mill variedad Hass en la mufla.

Fuente: Laboratorio de Análisis de Alimentos FCQ-UG



Ilustración. 17 Muestras de semillas *Persea americana* Mill variedad Hass incineradas.
Fuente: Laboratorio de Análisis de Alimentos FCQ-UG



Ilustración. 16 Muestras de semillas *Persea americana* Mill variedad Hass puestas en desecador.
Fuente: Laboratorio de Análisis de Alimentos FCQ-UG

DETERMINACION DE CENIZAS INSOLUBLES EN AGUA Y ÁCIDO



Ilustración. 19 Cenizas insolubles en agua
Fuente: Laboratorio de Análisis de Alimentos FCQ-UG



Ilustración. 18 Cenizas insolubles en ácido
Fuente: Laboratorio de Análisis de Alimentos FCQ-UG

DETERMINACIÓN DE SUSTANCIAS SOLUBLES



Ilustración. 20 Sustancias solubles

Fuente: Laboratorio de Análisis de Alimentos FCQ-UG

Anexo 3. Identificación de metabolitos secundarios



Ilustración. 21 Ensayo de Liebermann-Burchard

Fuente: (Tigero, 2018)

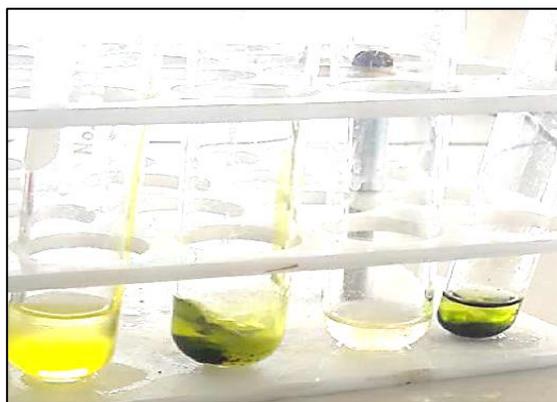


Ilustración. 22 Ensayo de Baljet

Fuente: (Tigero, 2018)



Ilustración. 24 Ensayo de sudan
Fuente: (Tigrero, 2018)

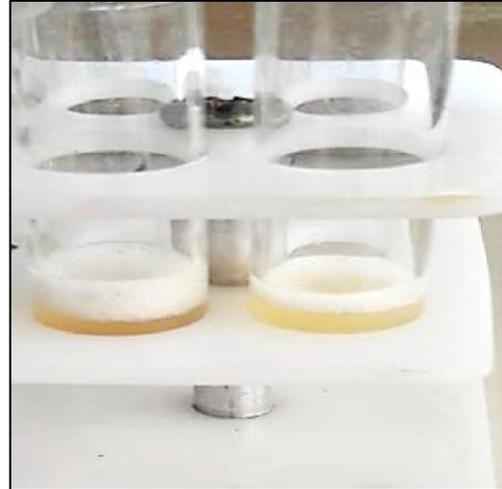


Ilustración. 23 Ensayo de Espuma
Fuente: (Tigrero, 2018)



Ilustración. 26 Ensayo de Borntrager
Fuente: (Tigrero, 2018)

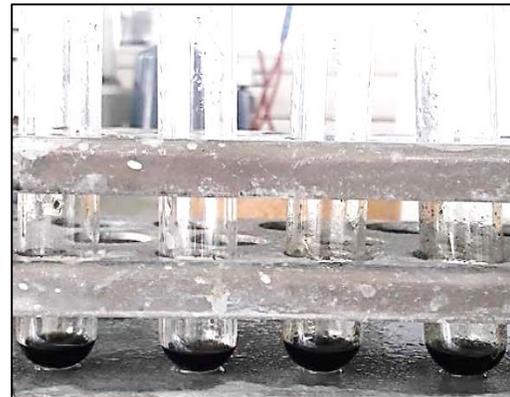


Ilustración. 25 Ensayo de Cloruro Férrico
Fuente: (Tigrero, 2018)

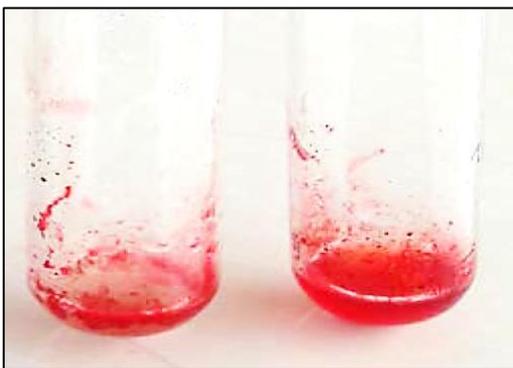


Ilustración. 27 Ensayo de sudan
Fuente: (Tigrero, 2018)