



Separación por exclusión salina de compuestos bioactivos de epicarpio de frutos de aguacate 'Hass' (*Persea americana* Mill.) durante la maduración

Perla Jiménez-Velázquez¹; Salvador Valle-Guadarrama^{1*}; Irán Alia-Tejagal²; Yolanda Salinas-Moreno³; Leticia García-Cruz¹

¹Universidad Autónoma Chapingo, Departamento de Ingeniería Agroindustrial, Programa de Posgrado en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria, carretera México- Texcoco km 38.5, Chapingo, Texcoco Edo. de México, C. P. 56230, México.

²Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Facultad de Ciencias Agropecuarias, ave. Universidad Núm. 1001, Chamilpa, Cuernavaca, Morelos, C. P. 62209, México.

³Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Laboratory of Crops Quality for Human and Livestock Use. Tepatitlán-Lagos de Moreno km 8, C. P. 47600, Jalisco, México.

*Corresponding author: svalleg.chapingo@gmail.com

Historial del artículo:

Recibido: July 8, 2023

Aceptado: January 7, 2024

*Autor de correspondencia:

svalleg.chapingo@gmail.com

Resumen

La industrialización del fruto de aguacate (*Persea americana* Mill.) 'Hass' genera residuos, como la cáscara o epicarpio, que contiene compuestos que pueden aprovecharse. El objetivo del trabajo fue separar compuestos bioactivos de epicarpio de frutos de aguacate 'Hass' a lo largo de la maduración mediante procedimientos de exclusión salina o extracción acuosa en dos fases (ATPE). Se utilizó un sistema ATPE con una mezcla de citrato trisódico ($\text{Na}_3\text{C}_3\text{H}_3\text{O}(\text{COO})_3$) y polietilenglicol 4000 (Peg4000) en concentración de 24.94 y 14.53 %, respectivamente, con la cual se demostró que es factible recuperar el 85.3 % de fenoles solubles presentes en el epicarpio del fruto. La separación de compuestos bioactivos aumentó conforme avanzó la maduración y las mayores cantidades de fenoles solubles totales, flavonoides, antocianinas y taninos condensables coincidieron con la madurez de consumo, con valores de 1 866.5, 717.6, 64.0 y 1 635.1 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, respectivamente, en la fase extractora. El método de ATPE puede ser una estrategia para aprovechar el epicarpio del aguacate 'Hass'.

► **Palabras clave:** *Persea americana* Mill., compuestos fenólicos, extracción acuosa en dos fases, postcosecha.

Introducción

El fruto de aguacate (*Persea americana* Mill.) es conocido por su alto contenido nutricional y los beneficios que confiere a la salud, que se deben esencialmente a la presencia de distintos compuestos (Forero-Doria et al., 2017) y a una alta actividad antioxidante (Villa-Rodríguez et al., 2011). El fruto de aguacate 'Hass' se consume principalmente en fresco; sin embargo, una parte de la producción se procesa para obtener productos de la cocina tradicional como el guacamole (Woolf et al., 2013). Durante el procesamiento se generan residuos, como la cáscara o epicarpio, cuyo aprovechamiento común ha sido la fabricación de composta (González-Fernández et al., 2015), aunque pueden destinarse a otros usos, como la fabricación de adsorbentes a partir de la cáscara para

la eliminación de tintes (Palma et al., 2016). El aprovechamiento de residuos de la actividad industrial es una práctica que ha ganado interés, porque en muchos casos se trata de materiales subutilizados con potencial de uso en la actividad agropecuaria (Vázquez-Cruz et al., 2018) o como fuente de compuestos de alto valor (Arias et al., 2023). En el caso del epicarpio de aguacate, se trata de un residuo que contiene compuestos bioactivos (Bowen et al., 2018; Terasawa et al., 2006), que justifican el desarrollo de procesos para su aprovechamiento (Saavedra et al., 2017), para destinarlos a otros usos, como la alimentación de animales (Hernández-López et al., 2016) o emprender procedimientos para extraer las sustancias de interés, en virtud de su alta capacidad antioxidante (Rodríguez-Carpena et al., 2011; Rosero et al., 2019; Wang et al., 2010) y antimicrobiana (Vargas-Torrico et al., 2022).

El fruto de aguacate ‘Hass’ es climatérico (Awad & Young, 1979) y, además de cambios físicos, experimenta cambios composicionales durante la maduración (Obenland et al., 2012; Pedreschi et al., 2016; Vekiari et al., 2004; Villa-Rodríguez et al., 2011). Al igual que la pulpa, el epicarpio del fruto de aguacate ‘Hass’ experimenta cambios en su composición a medida que madura (Bowen et al., 2018; Cox et al., 2004), por lo que el potencial de un aprovechamiento basado en la extracción de compuestos bioactivos de este material, puede variar con el estado fisiológico del fruto que debe evaluarse.

La extracción de compuestos bioactivos a partir de la cáscara de aguacate, con fines de cuantificación, se ha ensayado mediante el uso de una mezcla de acetona:agua (Rodríguez-Carpena et al., 2011; Rosero et al., 2019) o ácido acético (Wang et al., 2010). Sin embargo, el escalamiento para una implementación industrial puede verse limitado por el requerimiento de grandes volúmenes de solventes y tiempos largos de contacto (Easmin et al., 2015). La extracción acuosa en dos fases (ATPE) es un procedimiento basado en exclusión salina que puede ser usado para la separación de sustancias bioactivas como los compuestos fenólicos (Rodríguez-Salazar & Valle-Guadarrama, 2020), sin el uso de solventes orgánicos, sin tratamiento térmico y con alto potencial de escalamiento (de Araújo et al., 2018). El método de ATPE se desarrolla a través de mezclas de componentes que pueden incluir dos polímeros o un polímero y una sal, que en ciertas concentraciones generan una solución verdadera en una fase homogénea, pero, en otras, la combinación causa la formación de dos fases inmiscibles, entre las cuales se separan los compuestos de interés, de acuerdo a su estructura química y afinidad para la interacción con los componentes del sistema (Quintão et al., 2017). Entre los polímeros más usados está el polietilenglicol de alto peso molecular, debido a su disponibilidad a bajo costo, su hidrofiliidad y baja toxicidad (Zhang et al., 2013). Con relación a las sales, Rodríguez-Salazar y Valle-Guadarrama (2020) indicaron que debía considerarse el uso de los compuestos extraídos y mostraron que el citrato de sodio podía ser una alternativa adecuada. Por otro lado, se ha demostrado que la extracción acuosa en dos fases tiene potencial para extraer con eficiencia compuestos bioactivos de epicarpio de frutos de aguacate ‘Hass’ (Jiménez-Velázquez et al., 2020). En tal contexto, el objetivo del trabajo fue evaluar la separación de compuestos bioactivos de epicarpio de frutos de aguacate ‘Hass’ a lo largo de la maduración mediante procedimientos de extracción acuosa en dos fases.

Materiales y métodos

Material vegetal

Se cosecharon frutos de aguacate ‘Hass’ con peso de 187.76 ($\pm$ 30.89) g, en madurez fisiológica, desarrollados en la región de Tetela del Volcán, México (18° 53’ 35” N, 98° 43’ 47” O) localizada a 2 231 m sobre el nivel del mar y caracterizada por tener variación de temperatura entre 9.8 y 22.9 °C.

Organización experimental

Los frutos se colocaron en un ambiente aislado a 25 ($\pm$ 1) °C con humedad relativa de 40 ($\pm$ 1) %. Diariamente, se eligieron 10 frutos durante un almacenamiento de 10 d, para la evaluación de firmeza y color. La firmeza se midió en dos lados de la zona ecuatorial con un equipo analizador de textura (SM-100N-168, Ametek and Chatillon, Florida, USA) provisto de un aditamento cónico con diámetro de 3.4 mm en la base y longitud de 5 mm. Se aplicó una rutina de medición de fuerza en compresión con velocidad de ensayo de 5 mm·s⁻¹ y distancia de deformación de 5 mm. Se obtuvo la media de las determinaciones de cada fruto y los resultados se expresaron en Newton (N). El color se midió en el epicarpio con un colorímetro (X-rite mod. 3690®, USA) y se expresó como luminosidad (L*), ángulo de tono (H*) y cromaticidad (C*) (McGuire, 1992). Posteriormente, se retiró el epicarpio de los frutos, se liofilizó, se molió y se almacenó en bolsas de plástico resellables a -20 °C, para ser usado como material fuente para la separación de compuestos fenólicos, flavonoides, antocianinas y taninos condensables, con un procedimiento de extracción acuosa en dos fases (ATPE). Asimismo, el material correspondiente a madurez fisiológica y madurez de consumo se sometió a análisis proximal mediante los procedimientos de la AOAC (1990).

Potencial de separación de compuestos bioactivos

Con base en la recomendación de Jiménez-Velázquez et al. (2020), se prepararon soluciones acuosas de 20 g de citrato trisódico y polietilenglicol 4000 (Peg4000), a las concentraciones de 24.94 y 14.53 %, respectivamente. En las soluciones se incorporó 0.5 g de epicarpio liofilizado de frutos en madurez fisiológica. La mezcla se homogeneizó en equipo Ultra Turrax T25 (IKA Labortechnik, Staufen, Alemania) durante 5 min a 10 000 rpm y se agitó en un equipo Vortemp 56 (ThermoFisher Scientific, USA) por 10 min a 10 000 rpm. Las soluciones se dejaron en reposo durante 12 h para permitir la formación de sistemas bifásicos. Se separaron las fases y en cada una se midió volumen (V), concentración de fenoles solubles totales (c_{isp}), relación de volúmenes (V_r), coeficiente de partición (K) y rendimiento de separación (Y_{isp}), con los cálculos descritos en la Ecuación (1) (Jiménez-Velázquez et al., 2020), donde los subíndices *t* y *b* hacen referencia a las fases superior e inferior de los sistemas, respectivamente.

$$V_r = \frac{V_t}{V_b}; \quad K = \frac{(c_{isp})_t}{(c_{isp})_b}; \quad Y = \frac{(c_{isp})_t V_t}{(m_{isp})_0}$$

Separación de compuestos bioactivos durante el almacenamiento

Se prepararon mezclas de Peg4000 y citrato trisódico a concentración de 24.94 y 14.53 %, respectivamente. Los sistemas fueron incorporados con epicarpio liofilizado de

cada uno de los días evaluados durante el almacenamiento postcosecha en proporción de 2.5 %. Todas las mezclas se sometieron a homogeneización, agitación y reposo en las mismas condiciones descritas anteriormente. En cada caso se recuperó la fase superior de los sistemas y se evaluó contenido de fenoles solubles totales, flavonoides, antocianinas y taninos condensables.

Concentración de compuestos bioactivos

El contenido de fenoles solubles totales (*fst*) se determinó con el método del reactivo de Folin-Ciocalteu (FC) (Singleton y Rossi, 1965), donde 250 μL de FC reaccionaron con 100 μL de muestra en tubos de ensayo durante seis min. Posteriormente, la mezcla se neutralizó con 1.25 mL de una solución de Na_2CO_3 (19 % p/v) y el volumen se ajustó a 3.0 mL con agua destilada. Las mezclas se agitaron en vórtex y se colocaron en oscuridad durante 90 min para lograr la estabilización. Se aplicó centrifugación (equipo Hermle Z200, Labortechnik, Alemania) a 13 000 $\times g$ durante 10 min para eliminar turbidez y se determinó absorbancia en un espectrofotómetro UV-Vis (DR 500 UV-vis HACH, USA) a 760 nm. Para la determinación de la concentración se realizó una curva estándar de ácido gálico y el contenido de *fst* se expresó como μg equivalentes de ácido gálico por mililitro ($\mu\text{g EAG} \cdot \text{mL}^{-1}$).

Para cuantificar flavonoides (*fla*) se utilizó una curva de calibración con 3 000 ppm de (+)-catequina (Kubola y Siriamornpun, 2011). Se hicieron las diluciones necesarias para cada tratamiento de extracto con agua destilada. Posteriormente, se tomó una alícuota de 0.5 mL y se disolvió en 2 mL de agua destilada. Después, se adicionaron 0.15 mL de NaNO_2 al 5 % y se dejó reposar la muestra durante 6 min en oscuridad. Se adicionaron 0.15 mL de AlCl_3 al 10 % y se permitió reposo por 6 min en oscuridad. A continuación, se adicionaron 2 mL de NaOH al 4 % y 0.2 mL de agua destilada para aforar a 5 mL. Finalmente, las muestras se leyeron a 510 nm en un espectrofotómetro (DR 500 UV-vis HACH, USA). Los resultados se expresaron en μg de catequina $\cdot \text{mL}^{-1}$ ($\mu\text{g EPC} \cdot \text{mL}^{-1}$).

Para medir la concentración de antocianinas (*ant*), se utilizó un estándar de cianidina clorada, con la cual se

preparó una curva de calibración para concentración que varió entre 5 y 30 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$. Enseguida, se procedió a medir la absorbancia de las muestras en un espectrofotómetro (DR 500 UV-vis HACH, USA), a 535 nm. Los resultados fueron reportados en μg equivalentes de cianidina clorada por mililitro ($\mu\text{g}_{\text{cc}} \cdot \text{mL}^{-1}$).

Para determinar el contenido de taninos condensables (*tan*) se utilizó el método descrito por Price et al. (1978) con algunas modificaciones. Se tomaron 20 μL de la fase superior obtenida de los sistemas de ATPE, los cuales se agregaron a 180 μL de metanol y se aplicó agitación. Luego se agregaron 1.2 mL de vainillina (grado analítico, Merck) al 4 % p/v en metanol (grado analítico, Merck). Finalmente, se agregaron 600 μL de HCl concentrado y protegido de la luz por 30 min. Se midió absorbancia a una longitud de onda de 500 nm. Se preparó una curva de calibración con (+)-catequina (EPC) en concentración que varió de 2 a 35 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$. El contenido de taninos condensables se expresó en μg equivalentes de catequina por mililitro ($\mu\text{g EPC} \cdot \text{mL}^{-1}$).

Análisis de datos

El trabajo tuvo al tiempo como único factor de variación. Los datos de firmeza de pulpa, color de epicarpio y rendimientos de separación de fenoles solubles, flavonoides, antocianinas y taninos condensables de epicarpio se sometieron a análisis de varianza y rutinas de comparación de medias con la prueba de Tukey, usando nivel de significancia de 0.05. Asimismo, se realizó la comparación de los resultados del análisis proximal del epicarpio de frutos de aguacate ‘Hass’ entre las condiciones de madurez fisiológica y madurez de consumo (Cuadro 1). Todas las rutinas se realizaron por triplicado.

Resultados y discusión

Firmeza

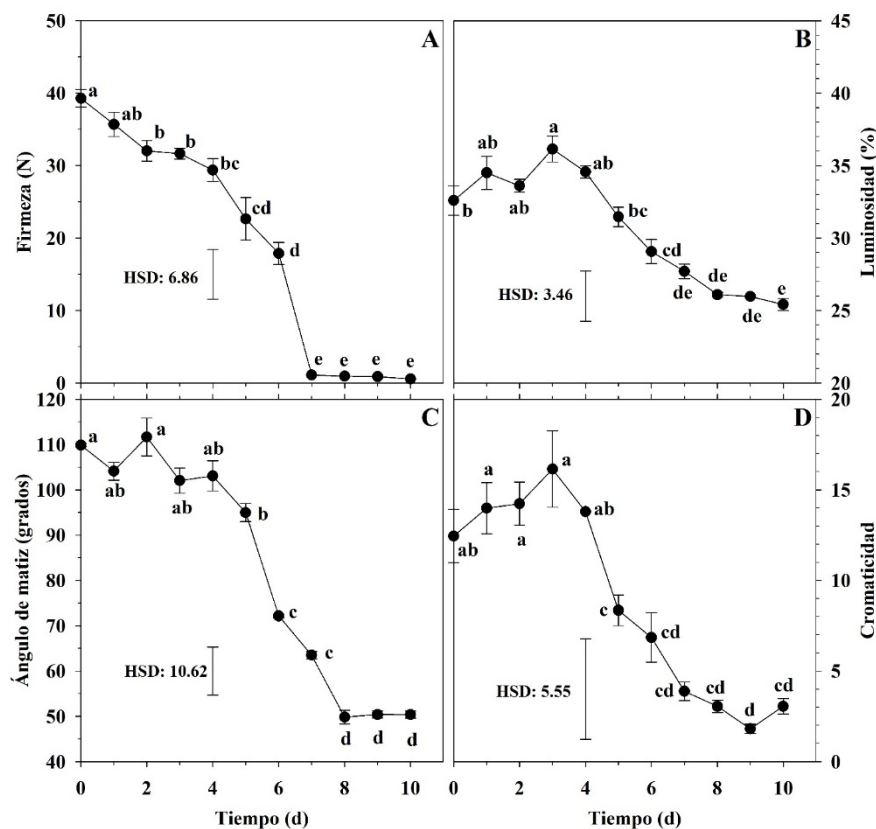
Los frutos presentaron firmeza inicial de 39.27 (± 2.08) N y durante el almacenamiento esta variable disminuyó con un comportamiento sigmoidal, donde los cambios más visibles ocurrieron entre 4 y 7 d, para alcanzar valores finales de 1.10 (± 0.04) N (Figura 1A). El fruto de aguacate

Cuadro 1. Parámetros fisicoquímicos del epicarpio del fruto de aguacate ‘Hass’ en madurez de consumo y madurez fisiológica (base seca).

Determinaciones (%)	Madurez fisiológica MF	Madurez de consumo MC
Humedad	75.70 b $\pm$ 0.05	76.31 a $\pm$ 0.37
Cenizas	0.59 b $\pm$ 0.07	0.88 a $\pm$ 0.05
Proteína cruda	7.57 b $\pm$ 0.006	8.36 a $\pm$ 0.32
Extracto etéreo	9.57 a $\pm$ 0.51	4.83 b $\pm$ 0.90
Fibra cruda	1.70 b $\pm$ 0.11	3.31 a $\pm$ 0.68

Medias seguidas con la misma letra dentro de filas no son estadísticamente diferentes con base en la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$) $\pm$ desviación estándar.

Figura 1. Cambios en firmeza y color del epicarpio de frutos de aguacate 'Hass' a lo largo de la maduración en postcosecha. Letras distintas indican diferencia significativa (Tukey, 0.05). HSD: Diferencia significativa honesta. Las barras de error corresponden a errores estándar.



'Hass' es climatérico y la reducción de la firmeza es una característica de la maduración, lo cual ha sido reportado por Sierra et al. (2019) y Valle-Guadarrama et al. (2013) a temperaturas de 20-21 °C. La disminución de la firmeza en productos hortofrutícolas está relacionada con la degradación de pectina y hemicelulosa, presentes en la pared celular, por acción enzimática (Wang et al., 2018).

Color

La luminosidad (L^*), el ángulo de matiz (H^*) y la cromaticidad (C^*) del epicarpio se mantuvieron en rangos con diferencias no significativas ($P > 0.05$), entre 32.6-36.2 %, 102.1-111.7° y 12.4-13.8, respectivamente, durante los primeros cuatro días de almacenamiento. Sin embargo, entre cuatro y ocho días, los tres atributos experimentaron un decremento significativo ($P \leq 0.05$), con un comportamiento prácticamente lineal de 34.6 a 26.1 % en L^* , de 103.1 a 49.8° en H^* y de 13.8 a 3.05 en C^* . Finalmente, en el periodo de ocho a diez días estos atributos se mantuvieron en rangos alrededor de valores promedio de 25.8 %, 50.2° y 2.6, respectivamente, sin diferencias significativas ($P > 0.05$) (Figuras 1B, 1C y 1D). La maduración del fruto de aguacate 'Hass' está acompañada por un cambio en el color del epicarpio y está caracterizada típicamente como un oscurecimiento. Este comportamiento se ha explicado en términos de una reducción en el contenido de clorofila

y síntesis de pigmentos, como las antocianinas, a medida que avanza el periodo de postcosecha (Cox et al., 2004). Los valores fueron semejantes a los que reportaron Salcedo et al. (2018), a una temperatura de almacenamiento de 10 °C durante 20 d y Sierra et al. (2019), durante 20 d de almacenamiento a una temperatura de 21 °C. Por otra parte, Arpaia et al. (2018) mostraron valores finales de almacenamiento por 11 d de 28.29, 5.45 y 67.20 de L^* , C^* y H^* , respectivamente a una temperatura de 25 °C.

Análisis proximal

La composición bromatológica del epicarpio de los frutos fue distinta ($P \leq 0.05$) entre los estados de madurez fisiológica (MF) y madurez de consumo (MC). Después de la humedad, los componentes mayoritarios fueron el extracto etéreo en MF y la proteína cruda en MC. El extracto libre de nitrógeno se obtuvo por diferencia a 100 de los porcentajes de ceniza, fibra cruda, extracto etéreo, proteína cruda y humedad, y tuvo valor promedio de 4.87 % en madurez fisiológica y de 6.31 % en madurez de consumo, lo que indicó que fue la cuarta fracción más importante en el epicarpio de los frutos. Daiuto et al. (2014) evaluaron la composición proximal de epicarpio de frutos de aguacate 'Hass', pero reportaron valores menores de extracto etéreo (2.18 %) y proteína (0.17 %), aunque el nivel de fibra cruda fue similar (1.29 %). La composición de los residuos de

aguacate varía entre cultivares y a veces en el mismo cultivar, lo cual puede ser debido a factores que influyen en la composición de la fruta durante su desarrollo, incluyendo la región de producción de aguacate, clima, altitud, precipitación, genética, entre otros (Araújo et al., 2018).

Potencial de separación de compuestos bioactivos con ATPE

La mezcla de polietilenglicol 4000 (Peg4000) y citrato trisódico en concentraciones de 12.23 y 15.51 %, respectivamente, formó dos fases inmiscibles. Este hecho ocurrió por un fenómeno de exclusión salina o *salting out* (Sadeghi & Jahani, 2012). En la concentración usada de citrato de sodio la interacción de iones en solución con el agua fue suficientemente alta para causar reducción en la interacción de las cadenas de polímero con el disolvente, lo que se tradujo en una disminución de su solubilidad, dando como resultado la exclusión del mismo en la solución y la formación de dos fases inmiscibles. Así, después de un tiempo de reposo, se obtuvo una fase superior que tuvo volumen de 3.6 (± 0.3) mL y otra inferior de 9.6 (± 0.1) mL, lo que generó una relación de volúmenes (V_i) de 0.38 (± 0.03), es decir, que la fase superior fue significativamente menor a la fase inferior. La incorporación de epicarpio liofilizado proveniente de frutos en madurez fisiológica causó una concentración de fenoles solubles totales (c_{isp}) de 865.12 (± 18.34) $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ en la fase superior y de 7.70 (± 0.8) $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ en la fase inferior, lo que generó un coeficiente de partición (K) de 112.4 (± 6.3), es decir, que el 97.67 % (± 0.25 %) de tales compuestos migraron a la fase superior. Por otro lado, la concentración encontrada en el material vegetal fue de 7 300 ($\pm 1,890$) $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$. En tal sentido, en virtud de que se agregó 0.5 g de epicarpio liofilizado, los sistemas fueron incorporados, en promedio, con 3 650.0 μg de fenoles solubles [$(m_{isp})_0$]. Entonces, considerando el volumen de la fase superior, la cantidad de compuestos fenólicos presentes en la misma fue de 3 114.4 μg , es decir, que en esa fase se consiguió la recuperación de 85.3 % de la cantidad que estaba presente en el epicarpio liofilizado, lo cual se consideró como el potencial de separación (Y) de compuestos bioactivos del sistema empleado de extracción acuosa en dos fases.

Separación de compuestos bioactivos durante el almacenamiento

Se utilizaron sistemas ATPE para separar fenoles solubles (*tsp*), flavonoides (*fla*), antocianinas (*ant*) y taninos condensables (*tan*) de epicarpio de frutos separados en distintos días a lo largo del almacenamiento de 10 d. La concentración hallada en la fase superior de los sistemas se redujo ($P \leq 0.05$) en los primeros cuatro días de almacenamiento, de 865.1 a 370.3 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ en *tsp*, de 50.7 a 34.5 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ en *ant* y de 198.7 a 70.0 en *tan* (Figura 2). En tanto, la concentración de *fla* mostró variabilidad entre 100.3 y 306.1 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ en ese periodo, pero sin una tendencia clara. Sin embargo, en el periodo de cuatro a ocho días

de almacenamiento, la concentración de compuestos en la fase superior de los sistemas se incrementó en forma significativa ($P \leq 0.05$) hasta alcanzar valores máximos de 1 866.5 (± 22.6), 717.6 (± 20.8), 64.0 (± 0.74) y 1 635.1 (± 29.4) $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ en *tsp*, *fla*, *ant* y *tan*, respectivamente. Posteriormente, los casos de *tsp*, *fla* y *tan* experimentaron un descenso en la concentración hallada en el periodo de ocho a diez días de almacenamiento, en tanto que el contenido de antocianinas se mantuvo con valores cercanos al máximo alcanzado.

Está bien determinado que, además de los cambios físicos como los de firmeza y color, la pulpa del fruto de aguacate experimenta incrementos de materia seca, aceite y proteína, así como decrementos de azúcares totales (Pedreschi et al., 2016; Vekiari et al., 2004). Asimismo, se han caracterizado cambios en los perfiles de ácidos grasos (Pedreschi et al., 2016; Vekiari et al., 2004) y compuestos volátiles (Obenland et al., 2012) e incluso se ha determinado un incremento de compuestos fenólicos en general, pero un decremento de flavonoides (Villa-Rodríguez et al., 2011). De igual manera, el epicarpio del fruto experimenta cambios en su composición química, y los datos del presente trabajo muestran que los contenidos de fenoles solubles totales, en general, y de flavonoides, antocianinas y taninos condensables en particular, se modificaron con la maduración. La presencia de compuestos fenólicos en epicarpio de frutos de aguacate ha sido reportada en otros trabajos. Al respecto, se ha determinado la presencia de catequina, epicatequina, seis derivados de quercetina, dímeros de procianidinas, así como trímeros, tetrámeros, pentámeros y hexámeros (Rosero et al., 2019; Wang et al., 2010). También se ha reportado que la fracción de compuestos bioactivos con mayor actividad antioxidante han sido los taninos condensables (Rosero et al., 2019). Asimismo, Bowen et al. (2018) investigaron cambios en compuestos en el epicarpio de frutos de aguacate asociados con un efecto antifúngico, donde determinaron que la concentración de persina, un compuesto insoluble en agua con estructura similar a la de un ácido graso, disminuye con la maduración en forma paralela a la reducción de epicatequinas.

El color oscuro del epicarpio del fruto de aguacate 'Hass' en madurez de consumo, es causado por la presencia de antocianinas (Cox et al., 2004). Si bien estos compuestos pueden utilizarse como agentes pigmentantes naturales (Jamei y Babaloo, 2017), la concentración encontrada de ellos fue en realidad baja en comparación con otros materiales como algunas frutillas (Oladzadabbasabadi et al., 2022). Para verificar esta situación se seleccionaron muestras identificadas con alta y baja concentración de antocianinas correspondientes a estados de madurez fisiológica y de consumo, respectivamente. En ambos casos se realizó una dilución 1:15 con metanol y se obtuvo un barrido de 700 a 200 nm en espectrofotómetro (DR 500 UV-vis HACH, USA). Ambos tipos de muestras presentaron espectros similares. La estructura de las antocianinas es sensible a pH (Lee et al., 2005). Con esta base, el pH de

las muestras se redujo con HCl a valores entre 0 – 1 y el color de las muestras cambió solo a un tono ligeramente rosado, con valores de absorbancia entre 0.06 y 0.08 en longitud de onda de 530 nm, indicando una concentración muy baja de antocianinas, pero muy alta de otro tipo de compuestos. A este respecto, los resultados mostraron que, si bien el epicarpio de frutos de aguacate ‘Hass’ no puede considerarse una fuente importante de antocianinas, sí lo es de compuestos fenólicos en general y de taninos condensables en particular, además de ser fuente moderada de flavonoides. Dada la actividad antioxidante alta de este tipo de compuestos (Martins et al., 2016), el epicarpio de frutos puede tener un valor comercial alto y, en virtud de que constituye un producto subutilizado de la industrialización del fruto, su aprovechamiento puede contribuir al incremento del valor agregado de este material. El contenido de compuestos fenólicos se modifica con el estado de madurez, por lo cual Dong et al. (2019), señalaron que es necesario identificar la condición fisiológica que optimice el aprovechamiento de este tipo de compuestos. Al respecto, los resultados del presente trabajo indicaron que las mayores concentraciones de los compuestos bioactivos evaluados coinciden con el momento en que se alcanza la madurez de consumo, lo cual constituye una ventaja para empresas que industrializan el fruto de aguacate ‘Hass’, donde la condición fisiológica requerida coincide con este estado. Sin embargo, en virtud de que la concentración de compuestos bioactivos disminuye en el epicarpio durante los últimos días de almacenamiento, es necesario evitar una sobremaduración de los frutos para conseguir el máximo aprovechamiento de los mismos.

Conclusiones

El epicarpio de frutos de aguacate ‘Hass’ es rico en fenoles solubles, flavonoides y taninos condensables, aunque su contenido de antocianinas fue bajo. El contenido de fenoles solubles, flavonoides, antocianinas y taninos condensables se modifica en el epicarpio de frutos de aguacate ‘Hass’ durante la maduración del fruto en el periodo postcosecha, con valores máximos alcanzados en forma coincidente con la madurez de consumo en una condición térmica ambiental. La extracción acuosa en dos fases es un procedimiento útil para separar compuestos bioactivos de epicarpio de aguacate ‘Hass’ obtenido de distintos estados de madurez del fruto.

Referencias

- AOAC. (1990). Official Methods and Analysis. 14th ed. Association of Official Analytical Chemists. Airlington, VA, EEUU. 689 pp.
- Araújo, R. G., Rodríguez-Jasso, R. M., Ruiz, H. A., Pintado, M. M. E., & Aguilar, C. N. (2018). Avocado by-products: nutritional and functional properties. *Trends in Food Science & Technology*, 80, 51-60. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.07.027>
- Arias, A., Costa, C. E., Feijoo, G., Moreira, M. T., & Domingues, L. (2023). Process modeling, environmental and economic sustainability of the valorization of whey and eucalyptus residues for resveratrol biosynthesis. *Waste Management*, 172, 226-234. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2023.10.030>
- Arpaia, M. L., Collin, S., Sievert, J., & Obenland, D. (2018). ‘Hass’ avocado quality as influenced by temperature and ethylene prior to and during final ripening. *Postharvest Biology and Technology*, 140, 76-84. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2018.02.015>
- Awad, M., & Young, R. E. (1979). Postharvest variation in cellulase, polygalacturonase and pectinmethylesterase in avocado (*Persea americana* Mill., cv. Fuerte) fruits in relation to respiration and ethylene production. *Plant Physiology*, 64, 306-308. <https://doi.org/10.1104/pp.64.2.306>
- Bowen, J., Billing, D., Connolly, P., Smith, W., Cooney, J., & Burdon, J. (2018). Maturity, storage and ripening effects on anti-fungal compounds in the skin of ‘Hass’ avocado fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 146, 43-50. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2018.08.005>
- Cox, K. A., McGhie, T. K., White, A., & Woolf, A. B. (2004). Skin colour and pigment changes during ripening of ‘Hass’ avocado fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 31(3), 287-294. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2003.09.008>
- Daiuto, É. R., Tremocoldi, M. A., Matias De Alencar, S., Vieites, R. L., & Minarelli, P. H. (2014). Chemical composition and antioxidant activity of the pulp, peel and by products of avocado ‘Hass’. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 36(2), 417-424. <https://doi.org/10.1590/0100-2945-102/13>
- de Araújo, P. C. E., Dantas, P. V. F., da Costa, N. C., de Sá, L. A. L., Nóbrega, A. H., de Santana, S. D. F., Araújo, O. J., Ribeiro, M. G., & dos Santos, E. S. (2018). Enhancing the recovery and concentration of polyphenols from camu-camu (*Myrciaria dubia* H.B.K. McVaugh) by aqueous two-phase flotation and scale-up process. *Separation Science and Technology*, 53(13), 2126-2135. <https://doi.org/10.1080/01496395.2018.1442865>
- Dong, X., Hu, Y., Li, Y., & Zhou, Z. (2019). The maturity degree, phenolic compounds and antioxidant activity of Eureka lemon [*Citrus limon* (L.) Burm. f.]: A negative correlation between total phenolic content, antioxidant capacity and soluble solid content. *Scientia Horticulturae*, 243, 281-289. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.08.036>
- Easmin, M. S., Sarker, M. Z. I., Ferdosh, S., Shamsudin, S. H., Bin, Y. K., Uddin, M. S., Rahman, S. M. M., Haque, A. J., Hossain, M. S., & Khalil, H. P. S. A. (2015). Bioactive compounds and advanced processing technology: *Phaleria macrocarpa* (sheff.) Boerl, a review. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 90(6), 981-991. <https://doi.org/10.1002/jctb.4603>
- Forero-Doria, O., García, M. F., Vergara, C. E., & Guzman, L. (2017). Thermal analysis and antioxidant activity

- of oil extracted from pulp of ripe avocados. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 130(2), 959–966. <https://doi.org/10.1007/s10973-017-6488-9>
- González-Fernández, J. J., Galea, Z., Álvarez, J. M., Hormaza, J. I., & López, R. (2015). Evaluation of composition and performance of composts derived from guacamole production residues. *Journal of Environmental Management*, 147, 132–139. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2014.09.016>
- Hernández-López, S. H., Rodríguez-Carpena, J. G., Lemus-Flores, C., Grageola-Núñez, F., & Estévez, M. (2016). Avocado waste for finishing pigs: Impact on muscle composition and oxidative stability during chilled storage. *Meat Science*, 116, 186–192. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.02.018>
- Jamei, R., & Babaloo, F. (2017). Stability of blueberry (*Cornus mas*-Yulyush) anthocyanin pigment under pH and co-pigment treatments. *International Journal of Food Properties*, 20(9), 2128–2133. <https://doi.org/10.1080/10942912.2016.1233116>
- Jiménez-Velázquez, P., Valle-Guadarrama, S., Alia-Tejagal, I., Salinas-Moreno, Y., García-Cruz, L., Pérez-López, A., & Guerra-Ramírez, D. (2020). Separation of bioactive compounds from epicarp of 'Hass' avocado fruit through aqueous two-phase systems. *Food and Bioprocess Processing*, 123, 238–250. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2020.07.004>
- Kubola, J., & Siriamornpun, S. (2011). Phytochemicals and antioxidant activity of different fruit fractions (peel, pulp, aril and seed) of Thai gac (*Momordica cochinchinensis* Spreng). *Food Chemistry*, 127(3), 1138–1145. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.01.115>
- Lee, J., Robert, W. D., y Wrolstad, R. E. (2005). Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: collaborative study. *Journal of AOAC International*, 88(5), 1269–1278.
- Martins, N., Barros, L., & Ferreira, I. C. F. R. (2016). In vivo antioxidant activity of phenolic compounds: Facts and gaps. *Trends in Food Science and Technology*, 48, 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.11.008>
- McGuire, R. G. (1992). Reporting of objective color measurements. *HortScience*, 27(12), 1254–1255. <https://doi.org/10.21273/hortsci.27.12.1254>
- Obenland, D., Collin, S., Sievert, J., Negm, F., & Arpaia, M. L. (2012). Influence of maturity and ripening on aroma volatiles and flavor in 'Hass' avocado. *Postharvest Biology and Technology*, 71, 41–50. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2012.03.006>
- Oladzadabbasabadi, N., Mohammadi Nafchi, A., Ghasemlou, M., Ariffin, F., Singh, Z., & Al-Hassan, A. (2022). Natural anthocyanins: Sources, extraction, characterization, and suitability for smart packaging. *Food Packaging and Shelf Life*, 33, 100872. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2022.100872>
- Palma, C., Lloret, L., Puen, A., Tobar, M., & Contreras, E. (2016). Production of carbonaceous material from avocado peel for its application as alternative adsorbent for dyes removal. *Chinese Journal of Chemical Engineering*, 24(4), 521–528. <https://doi.org/10.1016/j.cjche.2015.11.029>
- Pedreschi, R., Hollak, S., Harkema, H., Otma, E., Robledo, P., Westra, E., Somhorst, D., Ferreyra, R., & Defilippi, B.G. (2016). Impact of postharvest ripening strategies on 'Hass' avocado fatty acid profiles. *South African Journal of Botany*, 103, 32–35. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2015.09.012>
- Price, M. L., Van Scoyoc, S., & Butler, L. G. (1978). A critical evaluation of the vanillin reaction as an assay for tannin in sorghum grain. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 26(5), 1214–1218. <https://doi.org/10.1021/jf60219a031>
- Quintão, J. C., Patrício, P. R., Veloso, A. C. G., de Carvalho, R. M. M., da Silva, L. H. M., & Hespanhol, M. C. (2017). Liquid-liquid equilibrium of the ternary ammonium salt + poly(propylene glycol) + water system. *Fluid Phase Equilibria*, 442, 96–103. <https://doi.org/10.1016/j.fluid.2017.03.018>
- Rodríguez-Carpena, J. G., Morcuende, D., & Estévez, M. (2011). Avocado by-products as inhibitors of color deterioration and lipid and protein oxidation in raw porcine patties subjected to chilled storage. *Meat Science*, 89(2), 166–173. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2011.04.013>
- Rodríguez-Salazar, N., & Valle-Guadarrama, S. (2020). Separation of phenolic compounds from roselle (*Hibiscus sabdariffa*) calyces with aqueous two-phase extraction based on sodium citrate and polyethylene glycol or acetone. *Separation Science and Technology*, 55, 2313–2324. <https://doi.org/10.1080/01496395.2019.1634730>
- Rosero, J. C., Cruz, S., Osorio, C., & Hurtado, N. (2019). Analysis of phenolic composition of byproducts (seeds and peels) of avocado (*Persea americana* Mill.) cultivated in Colombia. *Molecules*, 24(17), 3209. <https://doi.org/10.3390/molecules24173209>
- Saavedra, J., Córdova, A., Navarro, R., Díaz-Calderón, P., Fuentealba, C., Astudillo-Castro, C., Toledo, L., Enrione, J., & Galvez, L. (2017). Industrial avocado waste: Functional compounds preservation by convective drying process. *Journal of Food Engineering*, 198, 81–90. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2016.11.018>
- Sadeghi, R., & Jahani, F. (2012). Salting-in and salting-Out of water-soluble polymers in aqueous salt solutions. *The Journal of Physical Chemistry B*, 116, 5234–5241. <https://doi.org/10.1021/jp300665b>
- Salcedo, R., Quiñones, Y., Melgarejo, L. M., Hernández, M., & Fernández-Trujillo, J. P. (2018). Variation in the fatty acid profile and quality of 'Hass' avocados preserved during cold storage. *Acta Horticulturae*, 1194, 1007–1010. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2018.1194.143>
- Sierra, N. M., Londoño, A., Gómez, J. M., Herrera, A. O., & Castellanos, D. A. (2019). Evaluation and modeling of changes in shelf life, firmness and color of 'Hass' avocado depending on storage temperature. *Food*

- Science and Technology International*, 25(5), 370-384. <https://doi.org/10.1177/1082013219826825>
- Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.
- Terasawa, N., Sakakibara, M., & Murata, M. (2006). Antioxidative Activity of Avocado Epicarp Hot Water Extract. *Food Science and Technology Research*, 12(1), 55-58. <https://doi.org/10.3136/fstr.12.55>
- Valle-Guadarrama, S., Morales-Cabrera, M., Peña-Valdivia, C. B., Mora-Rodríguez, B., Alia-Tejagal, I., Corrales-García, J., & Gómez-Cruz, A. (2013). Oxidative/fermentative behavior in the flesh of 'Hass' avocado fruits under natural and controlled atmosphere conditions. *Food and Bioprocess Technology*, 6(1), 272-282. <https://doi.org/10.1007/s11947-011-0747-8>
- Vargas-Torrico, M. F., von Borries-Medrano, E., Valle-Guadarrama, S., & Aguilar-Méndez, M. A. (2022). Development of gelatin-carboxymethylcellulose coatings incorporated with avocado epicarp and coconut endocarp extracts to control fungal growth in strawberries for shelf-life extension. *CyTA - Journal of Food*, 20(1), 27-38. <https://doi.org/10.1080/19476337.2021.2024607>
- Vázquez-Cruz, F., Rodríguez-Rodríguez, C., Morales-Fernandez, S. D., Ibáñez-Martínez, A., Jesuita-Pérez, Marroquín, G., & Berdeja-Arbeu, R. (2018). Residuos industriales para incrementar la capacidad de retención de humedad en un sustrato arenoso. *Acta Agrícola y Pecuaria*, 4(2), 54-59. <https://doi.org/10.30973/aap/2018.4.2/4>
- Vekiari, S. A., Papadopoulou, P. P., Lionakis, S., & Krystallis, A. (2004). Variation in the composition of Cretan avocado cultivars during ripening. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84(5), 485-492. <https://doi.org/10.1002/jsfa.1595>
- Villa-Rodríguez, J. A., Molina-Corral, F. J., Ayala-Zavala, J. F., Olivas, G. I., & González-Aguilar, G. A. (2011). Effect of maturity stage on the content of fatty acids and antioxidant activity of 'Hass' avocado. *Food Research International*, 44(5), 1231-1237. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.11.012>
- Wang, D., Yeats, T. H., Uluisik, S., Rose, J. K. C., & Seymour, G. B. (2018). Fruit softening: revisiting the role of pectin. *Trends in Plant Science*, 23 (4), 302-310. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2018.01.006>
- Wang, W., Bostic, T. R., & Gu, L. (2010). Antioxidant capacities, procyanidins and pigments in avocados of different strains and cultivars. *Food Chemistry*, 122(4), 1193-1198. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.03.114>
- Woolf, A. B., Wibisono, R., Farr, J., Hallett, I., Richter, L., Oey, I., Wohlers, M., Zhou, J., Fletcher, G. C., & Requejo-Jackman, C. (2013). Effect of high pressure processing on avocado slices. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 18(1), 65-73. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2013.02.011>
- Zhang, W., Hu, Y., Wang, Y., Han, J., Ni, L., & Wu, Y. (2013). Liquid-liquid equilibrium of aqueous two-phase systems containing poly(ethylene glycol) of different molecular weights and several ammonium salts at 298.15 K. *Thermochimica Acta*, 560, 47-54. <https://doi.org/10.1016/j.tca.2013.02.015>