

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

31 **Resumen**

32 La industrialización del fruto de aguacate (*Persea americana* Mill.) ‘Hass’ genera residuos, como la
33 cáscara o epicarpio, que contiene compuestos que pueden aprovecharse. El objetivo del trabajo fue
34 separar compuestos bioactivos de epicarpio de frutos de aguacate ‘Hass’ a lo largo de la maduración
35 mediante procedimientos de exclusión salina o extracción acuosa en dos fases (ATPE). Se utilizó un
36 sistema ATPE con una mezcla de citrato trisódico ($\text{Na}_3\text{C}_3\text{H}_5\text{O}(\text{COO})_3$) y polietilenglicol 4000
37 (Peg4000) en concentración de 24.94 y 14.53 %, respectivamente, con la cual se demostró que es
38 factible recuperar el 85.3 % de fenoles solubles presentes en el epicarpio del fruto. La separación de
39 compuestos bioactivos aumentó conforme avanzó la maduración y las mayores cantidades de fenoles
40 solubles totales, flavonoides, antocianinas y taninos condensables coincidieron con la madurez de
41 consumo, con valores de 1866.5, 717.6, 64.0 y 1635.1 $\mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente, en la fase extractora.
42 El método de ATPE puede ser una estrategia para aprovechar el epicarpio del aguacate ‘Hass’.

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

46 **Salting out separation of bioactive compounds from epicarp of ‘Hass’ avocado (*Persea americana***
47 **Mill.) fruit during ripening**

48 **Abstract**

49 The industrialization of the 'Hass' avocado fruit generates residues, such as the peel or epicarp, which
50 contains compounds that can be used. The objective of the work was to separate bioactive compounds
51 from epicarp of 'Hass' avocado fruits during ripening through the aqueous two-phase extraction (ATPE)

52 procedure. An ATPE system was used with a mixture of trisodium citrate ($\text{Na}_3\text{C}_3\text{H}_5\text{O}(\text{COO})_3$) and
53 polyethylene glycol 4000 (Peg4000) in concentrations of 24.94 and 14.53 %, respectively, which
54 allowed the recovery of 85.3 % of soluble phenols present in the epicarp of fruits. The extraction of
55 bioactive compounds increased as ripening progressed and the highest amounts of total soluble
56 phenols, flavonoids, anthocyanins, and condensable tannins coincided with the consumption maturity,
57 with values of 1866.5, 717.6, 64.0, and 1635.1 $\mu\text{g mL}^{-1}$, respectively, in the extraction phase. The
58 ATPE method is a strategy that makes it possible to take advantage of the 'Hass' avocado fruit epicarp.
59 **Key words:** *Persea americana* Mill., aqueous two-phase extraction, phenolic compounds, postharvest.

61 **Introducción**

62 El fruto de aguacate (*Persea americana* Mill.) es conocido por su alto contenido nutricional y los
63 beneficios que confiere a la salud, que se deben esencialmente a la presencia de distintos compuestos
64 (Forero-Doria et al., 2017) y a una alta actividad antioxidante (Villa-Rodríguez et al., 2011). El fruto de
65 aguacate 'Hass' se consume principalmente en fresco; sin embargo, una parte de la producción se
66 procesa para obtener productos de la cocina tradicional como el guacamole (Woolf et al., 2013).
67 Durante el procesamiento se generan residuos, como la cáscara o epicarpio, cuyo aprovechamiento
68 común ha sido la fabricación de composta (González-Fernández et al., 2015), aunque pueden destinarse
69 a otros usos, como la fabricación de adsorbentes a partir de la cáscara para la eliminación de tintes
70 (Palma et al., 2016). El aprovechamiento de residuos de la actividad industrial es una práctica que ha
71 ganado interés, porque en muchos casos se trata de materiales subutilizados con potencial de uso en la
72 actividad agropecuaria (Vázquez-Cruz et al., 2018) o como fuente de compuestos de alto valor (Arias
73 et al., 2023). En el caso del epicarpio de aguacate, se trata de un residuo que contiene compuestos
74 bioactivos (Bowen et al., 2018; Terasawa et al., 2006), que justifican el desarrollo de procesos para su
75 aprovechamiento (Saavedra et al., 2017), para destinarlos a otros usos, como la alimentación de

76 animales (Hernández-López et al., 2016) o emprender procedimientos para extraer las sustancias de
77 interés, en virtud de su alta capacidad antioxidante (Rodríguez-Carpena et al., 2011; Rosero et al.,
78 2019; Wang et al., 2010) y antimicrobiana (Vargas-Torrico et al., 2022).

79 El fruto de aguacate ‘Hass’ es climatérico (Awad & Young, 1979) y, además de cambios físicos,
80 experimenta cambios composicionales durante la maduración (Obenland et al., 2012; Pedreschi et al.,
81 2016; Vekiari et al., 2004; Villa-Rodríguez et al., 2011). Al igual que la pulpa, el epicarpio del fruto del
82 fruto de aguacate ‘Hass’ experimenta cambios en su composición a medida que madura (Bowen et al.,
83 2018; Cox et al., 2004), por lo que el potencial de un aprovechamiento basado en la extracción de
84 compuestos bioactivos de este material puede variar con el estado fisiológico del fruto y debe
85 evaluarse.

86 La extracción de compuestos bioactivos a partir de cáscara de aguacate, con fines de cuantificación, se
87 ha ensayado mediante el uso de una mezcla de acetona:agua (Rodríguez-Carpena et al., 2011; Rosero et
88 al., 2019) o ácido acético (Wang et al., 2010). Sin embargo, el escalamiento para una implementación
89 industrial puede verse limitado por el requerimiento de grandes volúmenes de solventes y tiempos
90 largos de contacto (Easmin et al., 2015). La extracción acuosa en dos fases (ATPE) es un
91 procedimiento basado en exclusión salina que puede ser usado para la separación de sustancias
92 bioactivas como los compuestos fenólicos (Rodríguez-Salazar & Valle-Guadarrama, 2020), sin el uso
93 de solventes orgánicos, sin tratamiento térmico y con alto potencial de escalamiento (de Araújo et al.,
94 2018). El método de ATPE se desarrolla a través de mezclas de componentes que pueden incluir dos
95 polímeros o un polímero y una sal, que en ciertas concentraciones generan una solución verdadera en
96 una fase homogénea, pero, en otras, la combinación causa la formación de dos fases inmiscibles, entre
97 las cuales se separan los compuestos de interés, de acuerdo a su estructura química y afinidad para la
98 interacción con los componentes del sistema (Quintão et al., 2017). Entre los polímeros más usados
99 está el polietilenglicol de alto peso molecular, debido a su disponibilidad a bajo costo, su hidrofiliidad

100 y baja toxicidad (Zhang et al., 2013). Con relación a las sales, Rodríguez-Salazar y Valle-Guadarrama
101 (2020) indicaron que debía considerarse el uso de los compuestos extraídos y mostraron que el citrato
102 de sodio podía ser una alternativa adecuada. Por otro lado, se ha demostrado que la extracción acuosa
103 en dos fases tiene potencial para extraer con eficiencia compuestos bioactivos de epicarpio de frutos de
104 aguacate 'Hass' (Jiménez-Velázquez et al., 2020). En tal contexto, el objetivo del trabajo fue evaluar la
105 separación de compuestos bioactivos de epicarpio de frutos de aguacate 'Hass' a lo largo de la
106 maduración mediante procedimientos de extracción acuosa en dos fases.

107

108 **Materiales y métodos**

109 **Material vegetal**

110 Se cosecharon frutos de aguacate 'Hass' con peso de 187.76 (\pm 30.89) g, en madurez fisiológica,
111 desarrollados en la región de Tetela del Volcán, México (18° 53' 35" N, 98° 43' 47" O) localizada a
112 2231 m sobre el nivel del mar y caracterizada por tener variación de temperatura entre 9.8 y 22.9 °C.

113 **Organización experimental**

114 Los frutos se colocaron en un ambiente aislado a 25 (\pm 1) °C con humedad relativa de 40 (\pm 1) %.
115 Diariamente, se eligieron 10 frutos durante un almacenamiento de 10 d, para la evaluación de firmeza y
116 color. La firmeza se midió en dos lados de la zona ecuatorial con un equipo analizador de textura (SM-
117 100N-168, Ametek and Chatillon, Florida, USA) provisto de un aditamento cónico que tenía diámetro
118 de 3.4 mm en la base y longitud de 5 mm. Se aplicó una rutina de medición de fuerza en compresión
119 con velocidad de ensayo de 5 mm s⁻¹ y distancia de deformación de 5 mm. Se obtuvo la media de las
120 determinaciones de cada fruto y los resultados se expresaron en Newton (N). El color se midió en el
121 epicarpio con un colorímetro (X-rite mod. 3690®, USA) y se expresó como luminosidad (L*), ángulo
122 de tono (H*) y cromaticidad (C*) (McGuire, 1992). Después, se retiró el epicarpio de los frutos, se

123 liofilizó, se molió y se almacenó en bolsas de plástico resellables a -20 °C, para ser usado como
124 material fuente para la separación de compuestos fenólicos, flavonoides, antocianinas y taninos
125 condensables, con un procedimiento de extracción acuosa en dos fases (ATPE). Asimismo, el material
126 correspondiente a madurez fisiológica y madurez de consumo se sometió a análisis proximal mediante
127 los procedimientos de la AOAC (1990).

128 **Potencial de separación de compuestos bioactivos**

129 Con base en la recomendación de Jiménez-Velázquez et al. (2020), se prepararon soluciones acuosas de
130 20 g de citrato trisódico y polietilenglicol 4000 (Peg4000), a las concentraciones de 24.94 y 14.53 %,
131 respectivamente. En las soluciones se incorporó 0.5 g de epicarpio liofilizado de frutos en madurez
132 fisiológica. La mezcla se homogeneizó en equipo Ultra Turrax T25 (IKA Labortechnik, Staufen,
133 Alemania) durante 5 min a 10,000 rpm y se agitó en un equipo Vortemp 56 (ThermoFisher Scientific,
134 USA) por 10 min a 10,000 rpm. Las soluciones se dejaron en reposo durante 12 h para permitir la
135 formación de sistemas bifásicos. Se separaron las fases y en cada una se midió volumen (V),
136 concentración de fenoles solubles totales (c_{tsp}), relación de volúmenes (V_r), coeficiente de partición (K)
137 y rendimiento de separación (Y_{tsp}), con los cálculos descritos en la Ecuación (1) (Jiménez-Velázquez et
138 al., 2020), donde los subíndices t y b hacen referencia a las fases superior e inferior de los sistemas,
139 respectivamente.

$$V_r = \frac{V_t}{V_b}; \quad K = \frac{(c_{tsp})_t}{(c_{tsp})_b}; \quad Y = \frac{(c_{tsp})_t V_t}{(m_{tsp})_0} \quad (1)$$

140 **Separación de compuestos bioactivos durante el almacenamiento**

141 Se prepararon mezclas de Peg4000 y citrato trisódico a concentración de 24.94 y 14.53 %,
142 respectivamente. Los sistemas fueron incorporados con epicarpio liofilizado de cada uno de los días
143 evaluados durante el almacenamiento postcosecha en proporción de 2.5 %. Todas las mezclas se
144 sometieron a homogeneización, agitación y reposo en las mismas condiciones descritas antes. En cada

145 caso se recuperó la fase superior de los sistemas y se evaluó contenido de fenoles solubles totales,
146 flavonoides, antocianinas y taninos condensables.

147 **Concentración de compuestos bioactivos**

148 El contenido de fenoles solubles totales (*fst*) se determinó con el método del reactivo de Folin-
149 Ciocalteu (FC) (Singleton & Rossi, 1965), donde 250 μL de FC reaccionaron con 100 μL de muestra en
150 tubos de ensayo durante 6 min. Después, la mezcla se neutralizó con 1.25 mL de una solución de
151 Na_2CO_3 (19 % p/v) y el volumen se ajustó a 3.0 mL con agua destilada. Las mezclas se agitaron en
152 vórtex y se colocaron en oscuridad durante 90 min para lograr la estabilización. Se aplicó
153 centrifugación (equipo Hermle Z200, Labortechnik, Alemania) a $13,000\times g$ durante 10 min para
154 eliminar turbidez y se determinó absorbancia en un espectrofotómetro UV-Vis (DR 500 UV-vis
155 HACH, USA) a 760 nm. Para la determinación de la concentración se realizó una curva estándar de
156 ácido gálico y el contenido de *fst* se expresó como μg equivalentes de ácido gálico por mililitro (μg
157 EAG mL^{-1}).

158 Para cuantificar flavonoides (*fla*) se utilizó una curva de calibración con 3000 ppm de (+)-catequina
159 (Kubola & Siriamornpun, 2011). Se hicieron las diluciones necesarias para cada tratamiento de extracto
160 con agua destilada. Posteriormente, se tomó una alícuota de 0.5 mL y se disolvió en 2 mL de agua
161 destilada. Después, se adicionaron 0.15 mL de NaNO_2 al 5 % y se dejó reposar la muestra durante 6
162 min en oscuridad. Se adicionaron 0.15 mL de AlCl_3 al 10 % y se permitió reposo por 6 min en
163 oscuridad. A continuación, se adicionaron 2 mL de NaOH al 4 % y 0.2 mL de agua destilada para
164 aforar a 5 mL. Finalmente, las muestras se leyeron a 510 nm en un espectrofotómetro (DR 500 UV-vis
165 HACH, USA). Los resultados se expresaron en μg de catequina mL^{-1} (μg EPC mL^{-1}).

166 Para medir la concentración de antocianinas (*ant*), se utilizó un estándar de cianidina clorada, con la
167 cual se preparó una curva de calibración para concentración que varió entre 5 y 30 μg mL^{-1} . Después, se
168 procedió a medir la absorbancia de las muestras en un espectrofotómetro (DR 500 UV-vis HACH,

169 USA), a 535 nm. Los resultados fueron reportados en μg equivalentes de cianidina clorada por mililitro
170 ($\mu\text{g}_{\text{cc}} \text{mL}^{-1}$).

171 Para determinar contenido de taninos condensables (*tan*) se utilizó el método descrito por Price et al.
172 (1978) con algunas modificaciones. Se tomaron 20 μL de la fase superior obtenida de los sistemas de
173 ATPE, los cuales se agregaron a 180 μL de metanol y se aplicó agitación. Luego se agregaron 1.2 mL
174 de vainillina (grado analítico, Merck) al 4 % p/v en metanol (grado analítico, Merck). Finalmente, se
175 agregaron 600 μL de HCl concentrado y protegido de la luz por 30 min. Se midió absorbancia a una
176 longitud de onda de 500 nm. Se preparó una curva de calibración con (+)-catequina (EPC) en
177 concentración que varió de 2 a 35 $\mu\text{g mL}^{-1}$. El contenido de taninos condensables se expresó en μg
178 equivalentes de catequina por mililitro ($\mu\text{g EPC mL}^{-1}$).

179 **Análisis de datos**

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

186

187 **Resultados y discusión**

188 **Firmeza**

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

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

196 **Color**

197 La luminosidad (L^*), el ángulo de matiz (H^*) y la cromaticidad (C^*) del epicarpio se mantuvieron en
198 rangos con diferencias no significativas ($p > 0.05$), entre 32.6-36.2 %, 102.1-111.7° y 12.4-13.8,
199 respectivamente, durante los primeros cuatro días de almacenamiento. Sin embargo, entre cuatro y
200 ocho días, los tres atributos experimentaron un decremento significativo ($p \leq 0.05$), con un
201 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
202 en C^* . Finalmente, en el periodo de ocho a diez días estos atributos se mantuvieron en rangos alrededor
203 de valores promedio de 25.8 %, 50.2° y 2.6, respectivamente, sin diferencias significativas ($p > 0.05$)
204 (Figuras 1B, 1C y 1D). La maduración del fruto de aguacate 'Hass' está acompañada por un cambio en
205 el color del epicarpio y está caracterizada típicamente como un oscurecimiento. Este comportamiento
206 se ha explicado en términos de una reducción en el contenido de clorofila y síntesis de pigmentos,
207 como las antocianinas, a medida que avanza el periodo de postcosecha (Cox et al., 2004). Los valores
208 fueron semejantes a los que reportaron Salcedo et al. (2018), a una temperatura de almacenamiento de
209 10 °C durante 20 d y Sierra et al. (2019), durante 20 d de almacenamiento a una temperatura de 21 °C.
210 Por otra parte, Arpaia et al. (2018) mostraron valores finales de almacenamiento por 11 d de 28.29,
211 5.45 y 67.20 de L^* , C^* y H^* , respectivamente a una temperatura de 25 °C.

212 **Análisis proximal**

213 La composición bromatológica del epicarpio de los frutos fue distinta ($p \leq 0.05$) entre los estados de
214 madurez fisiológica (MF) y madurez de consumo (MC). Después de la humedad, los componentes
215 mayoritarios fueron el extracto etéreo en MF y la proteína cruda en MC. El extracto libre de nitrógeno

216 se obtuvo por diferencia a 100 de los porcentajes de ceniza, fibra cruda, extracto etéreo, proteína cruda
217 y humedad, y tuvo valor promedio de 4.87 % en madurez fisiológica y de 6.31 % en madurez de
218 consumo, lo que indicó que fue la cuarta fracción más importante en el epicarpio de los frutos. Daiuto
219 et al. (2014) evaluaron la composición proximal de epicarpio de frutos de aguacate ‘Hass’, pero
220 reportaron valores menores de extracto etéreo (2.18 %) y proteína (0.17 %), aunque el nivel de fibra
221 cruda fue similar (1.29 %). La composición de los residuos de aguacate varía entre cultivares y a veces
222 en el mismo cultivar, lo cual puede ser debido a factores que influyen en la composición de la fruta
223 durante su desarrollo, incluyendo la región de producción de aguacate, clima, altitud, precipitación,
224 genética, entre otros (Araújo et al., 2018).

225 **Potencial de separación de compuestos bioactivos con ATPE**

226 La mezcla de polietilenglicol 4000 (Peg4000) y citrato trisódico en concentraciones de 12.23 y 15.51
227 %, respectivamente, formó dos fases inmiscibles. Este hecho ocurrió por un fenómeno de exclusión
228 salina o *salting out* (Sadeghi & Jahani, 2012). En la concentración usada de citrato de sodio la
229 interacción de iones en solución con el agua fue suficientemente alta para causar reducción en la
230 interacción de las cadenas de polímero con el disolvente, lo que se tradujo en una disminución de su
231 solubilidad, dando como resultado la exclusión del mismo en la solución y la formación de dos fases
232 inmiscibles. Así, después de un tiempo de reposo, se obtuvo una fase superior que tuvo volumen de 3.6
233 (± 0.3) mL y otra inferior de 9.6 (± 0.1) mL, lo que generó una relación de volúmenes (V_r) de 0.38
234 (± 0.03), es decir, que la fase superior fue significativamente menor a la fase inferior. La incorporación
235 de epicarpio liofilizado proveniente de frutos en madurez fisiológica causó una concentración de
236 fenoles solubles totales (c_{tsp}) de 865.12 (± 18.34) $\mu\text{g mL}^{-1}$ en la fase superior y de 7.70 (± 0.8) $\mu\text{g mL}^{-1}$
237 en la fase inferior, lo que generó un coeficiente de partición (K) de 112.4 (± 6.3), es decir, que el 97.67
238 % (± 0.25 %) de tales compuestos migraron a la fase superior. Por otro lado, la concentración
239 encontrada en el material vegetal fue de 7,300 ($\pm 1,890$) $\mu\text{g g}^{-1}$. En tal sentido, en virtud de que se

240 agregó 0.5 g de epicarpio liofilizado, los sistemas fueron incorporados, en promedio, con 3,650.0 μg de
241 fenoles solubles [$(m_{tsp})_0$]. Entonces, considerando el volumen de la fase superior, la cantidad de
242 compuestos fenólicos presentes en la misma fue de 3,114.4 μg , es decir, que en esa fase se consiguió la
243 recuperación de 85.3 % de la cantidad que estaba presente en el epicarpio liofilizado, lo cual se
244 consideró como el potencial de separación (Y) de compuestos bioactivos del sistema empleado de
245 extracción acuosa en dos fases.

246 **Separación de compuestos bioactivos durante el almacenamiento**

247 Se utilizaron sistemas ATPE para separar fenoles solubles (tsp), flavonoides (fla), antocianinas (ant) y
248 taninos condensables (tan) de epicarpio de frutos separados en distintos días a lo largo del
249 almacenamiento de 10 d. La concentración hallada en la fase superior de los sistemas se redujo ($p \leq$
250 0.05) en los primeros cuatro días de almacenamiento, de 865.1 a 370.3 $\mu\text{g mL}^{-1}$ en tsp , de 50.7 a 34.5
251 $\mu\text{g mL}^{-1}$ en ant y de 198.7 a 70.0 en tan (Figura 2). En tanto, la concentración de fla mostró
252 variabilidad entre 100.3 y 306.1 $\mu\text{g mL}^{-1}$ en ese periodo, pero sin una tendencia clara. Sin embargo, en
253 el periodo de cuatro a ocho días de almacenamiento, la concentración de compuestos en la fase superior
254 de los sistemas se incrementó en forma significativa ($p \leq 0.05$) hasta alcanzar valores máximos de
255 1,866.5 (± 22.6), 717.6 (± 20.8), 64.0 (± 0.74) y 1,635.1 (± 29.4) $\mu\text{g mL}^{-1}$ en tsp , fla , ant y tan ,
256 respectivamente. Posteriormente, los casos de tsp , fla y tan experimentaron un descenso en la
257 concentración hallada en el periodo de ocho a diez días de almacenamiento, en tanto que el contenido
258 de antocianinas se mantuvo con valores cercanos al máximo alcanzado.

259 Está bien determinado que, además de los cambios físicos como los de firmeza y color, la pulpa del
260 fruto de aguacate experimenta incrementos de materia seca, aceite y proteína, así como decrementos de
261 azúcares totales (Pedreschi et al., 2016; Vekiari et al., 2004). Asimismo, se han caracterizado cambios
262 en los perfiles de ácidos grasos (Pedreschi et al., 2016, Vekiari et al., 2004) y compuestos volátiles
263 (Obenland et al., 2012) e incluso se ha determinado un incremento de compuestos fenólicos en general,

264 pero un decremento de flavonoides (Villa-Rodríguez et al., 2011). De igual manera, el epicarpio del
265 fruto experimenta cambios en su composición química, y los datos del presente trabajo muestran que
266 los contenidos de fenoles solubles totales, en general, y de flavonoides, antocianinas y taninos
267 condensables en particular, se modificaron con la maduración. La presencia de compuestos fenólicos
268 en epicarpio de frutos de aguacate ha sido reportada en otros trabajos. Al respecto, se ha determinado la
269 presencia de catequina, epicatequina, seis derivados de quercetina, dímeros de procianidinas, así como
270 trímeros, tetrámeros, pentámeros y hexámeros (Rosero et al., 2019; Wang et al., 2010). También se ha
271 reportado que la fracción de compuestos bioactivos con mayor actividad antioxidante han sido los
272 taninos condensables (Rosero et al., 2019). Asimismo, Bowen et al. (2018) investigaron cambios en
273 compuestos en el epicarpio de frutos de aguacate asociados con un efecto antifúngico, donde
274 determinaron que la concentración de persina, un compuesto insoluble en agua con estructura similar a
275 la de un ácido graso, disminuye con la maduración en forma paralela a la reducción de epicatequinas.
276 El color oscuro del epicarpio del fruto de aguacate 'Hass' en madurez de consumo es causado por la
277 presencia de antocianinas (Cox et al., 2004). Si bien estos compuestos pueden utilizarse como agentes
278 pigmentantes naturales (Jamei & Babaloo, 2017), la concentración encontrada de ellos fue en realidad
279 baja en comparación con otros materiales como algunas frutillas (Oladzadabbasabadi et al., 2022). Para
280 verificar esta situación se seleccionaron muestras identificadas con alta y baja concentración de
281 antocianinas correspondientes a estados de madurez fisiológica y de consumo, respectivamente. En
282 ambos casos se realizó una dilución 1:15 con metanol y se obtuvo un barrido de 700 a 200 nm en
283 espectrofotómetro (DR 500 UV-vis HACH, USA). Ambos tipos de muestras presentaron espectros
284 similares. La estructura de las antocianinas es sensible a pH (Lee et al., 2005). Con esta base, el pH de
285 las muestras se redujo con HCl a valores entre 0 – 1 y el color de las muestras cambió sólo a un tono
286 ligeramente rosado, con valores de absorbancia entre 0.06 y 0.08 en longitud de onda de 530 nm,
287 indicando una concentración muy baja de antocianinas, pero muy alta de otro tipo de compuestos. A

288 este respecto, los resultados mostraron que, si bien el epicarpio de frutos de aguacate ‘Hass’ no puede
289 considerarse una fuente importante de antocianinas, sí lo es de compuestos fenólicos en general y de
290 taninos condensables en particular, además de ser fuente moderada de flavonoides. Dada la actividad
291 antioxidante alta de este tipo de compuestos (Martins et al., 2016), el epicarpio de frutos puede tener un
292 valor comercial alto y, en virtud de que constituye un producto subutilizado de la industrialización del
293 fruto, su aprovechamiento puede contribuir al incremento del valor agregado de este material. El
294 contenido de compuestos fenólicos se modifica con el estado de madurez, por lo cual Dong et al.
295 (2019), señalaron que es necesario identificar la condición fisiológica que optimice el aprovechamiento
296 de este tipo de compuestos. Al respecto, los resultados del presente trabajo indicaron que las mayores
297 concentraciones de los compuestos bioactivos evaluados coinciden con el momento en que se alcanza
298 la madurez de consumo, lo cual constituye una ventaja para empresas que industrializan el fruto de
299 aguacate ‘Hass’, donde la condición fisiológica requerida coincide con este estado. Sin embargo, en
300 virtud de que la concentración de compuestos bioactivos disminuye en el epicarpio durante los últimos
301 días de almacenamiento, es necesario evitar una sobremaduración de los frutos para conseguir el
302 máximo aprovechamiento de los mismos.

303

304 **Conclusiones**

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

312

313 **Referencias**

314 AOAC. (1990). Official Methods and Analysis. 14th ed. Association of Official Analytical Chemists.
315 Airlington, VA, EEUU. 689 pp.

316 Araújo, R. G., Rodriguez-Jasso, R. M., Ruiz, H. A., Pintado, M. M. E., & Aguilar, C. N. (2018).
317 Avocado by-products: nutritional and functional properties. *Trends in Food Science &*
318 *Technology*, 80, 51-60. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.07.027>

319 Arias, A., Costa, C. E., Feijoo, G., Moreira, M. T., & Domingues, L. (2023). Process modeling,
320 environmental and economic sustainability of the valorization of whey and eucalyptus residues
321 for resveratrol biosynthesis. *Waste Management*, 172, 226–234.
322 <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2023.10.030>

323 Arpaia, M. L., Collin, S., Sievert, J., & Obenland, D. (2018). ‘Hass’ avocado quality as influenced by
324 temperature and ethylene prior to and during final ripening. *Postharvest Biology and Technology*,
325 140, 76-84. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2018.02.015>

326 Awad, M. & Young, R. E. (1979). Postharvest variation in cellulase, polygalacturonase and
327 pectinmethylesterase in avocado (*Persea americana* Mill., cv. Fuerte) fruits in relation to
328 respiration and ethylene production. *Plant Physiology*, 64, 306-308.
329 <https://doi.org/10.1104/pp.64.2.306>

330 Bowen, J., Billing, D., Connolly, P., Smith, W., Cooney, J., & Burdon, J. (2018). Maturity, storage and
331 ripening effects on anti-fungal compounds in the skin of ‘Hass’ avocado fruit. *Postharvest Biology*
332 *and Technology*, 146, 43–50. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2018.08.005>

333 Cox, K. A., McGhie, T. K., White, A., & Woolf, A. B. (2004). Skin colour and pigment changes during
334 ripening of ‘Hass’ avocado fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 31(3), 287-294.
335 <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2003.09.008>

- 336 Daiuto, É. R., Tremocoldi, M. A., Matias De Alencar, S., Vieites, R. L., & Minarelli, P. H. (2014).
337 Chemical composition and antioxidant activity of the pulp, peel and by products of avocado
338 'Hass'. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 36(2), 417–424. [https://doi.org/10.1590/0100-2945-](https://doi.org/10.1590/0100-2945-102/13)
339 102/13
- 340 de Araújo, P. C. E., Dantas, P. V. F., da Costa, N. C., de Sá, L. A. L., Nóbrega, A. H., de Santana, S.
341 D. F., Araújo, O. J., Ribeiro, M. G., & dos Santos, E. S. (2018). Enhancing the recovery and
342 concentration of polyphenols from camu-camu (*Myrciaria dubia* H.B.K. McVaugh) by aqueous
343 two-phase flotation and scale-up process. *Separation Science and Technology*, 53(13), 2126–2135.
344 <https://doi.org/10.1080/01496395.2018.1442865>
- 345 Dong, X., Hu, Y., Li, Y., & Zhou, Z. (2019). The maturity degree, phenolic compounds and antioxidant
346 activity of Eureka lemon [*Citrus limon* (L.) Burm. f.]: A negative correlation between total
347 phenolic content, antioxidant capacity and soluble solid content. *Scientia Horticulturae*, 243, 281–
348 289. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.08.036>
- 349 Easmin, M. S., Sarker, M. Z. I., Ferdosh, S., Shamsudin, S. H., Bin, Y. K., Uddin, M. S., Rahman, S.
350 M. M., Haque, A. J., Hossain, M. S., & Khalil, H. P. S. A. (2015). Bioactive compounds and
351 advanced processing technology: *Phaleria macrocarpa* (sheff.) Boerl, a review. *Journal of*
352 *Chemical Technology and Biotechnology*, 90(6), 981–991. <https://doi.org/10.1002/jctb.4603>
- 353 Forero-Doria, O., García, M. F., Vergara, C. E., & Guzman, L. (2017). Thermal analysis and
354 antioxidant activity of oil extracted from pulp of ripe avocados. *Journal of Thermal Analysis and*
355 *Calorimetry*, 130(2), 959–966. <https://doi.org/10.1007/s10973-017-6488-9>
- 356 González-Fernández, J. J., Galea, Z., Álvarez, J. M., Hormaza, J. I., & López, R. (2015). Evaluation of
357 composition and performance of composts derived from guacamole production residues. *Journal*
358 *of Environmental Management*, 147, 132–139. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2014.09.016>
- 359 Hernández-López, S. H., Rodríguez-Carpena, J. G., Lemus-Flores, C., Grageola-Nuñez, F., & Estévez,

- 360 M. (2016). Avocado waste for finishing pigs: Impact on muscle composition and oxidative
361 stability during chilled storage. *Meat Science*, *116*, 186–192.
362 <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.02.018>
- 363 Jamei, R., & Babaloo, F. (2017). Stability of blueberry (*Cornus mas*–Yulyush) anthocyanin pigment
364 under pH and co-pigment treatments. *International Journal of Food Properties*, *20*(9), 2128–
365 2133. <https://doi.org/10.1080/10942912.2016.1233116>
- 366 Jiménez-Velázquez, P., Valle-Guadarrama, S., Alia-Tejacal, I., Salinas-Moreno, Y., García-Cruz, L.,
367 Pérez-López, A., & Guerra-Ramírez, D. (2020). Separation of bioactive compounds from epicarp
368 of ‘Hass’ avocado fruit through aqueous two-phase systems. *Food and Bioprocess Processing*,
369 *123*, 238–250. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2020.07.004>
- 370 Kubola, J., & Siriamornpun, S. (2011). Phytochemicals and antioxidant activity of different fruit
371 fractions (peel, pulp, aril and seed) of Thai gac (*Momordica cochinchinensis* Spreng). *Food*
372 *Chemistry*, *127*(3), 1138–1145. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.01.115>
- 373 Lee, J., Robert, W. D., & Wrolstad, R. E. (2005). Determination of total monomeric anthocyanin
374 pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential
375 method: collaborative study. *Journal of AOAC International*, *88*(5), 1269–1278.
- 376 Martins, N., Barros, L., & Ferreira, I. C. F. R. (2016). In vivo antioxidant activity of phenolic
377 compounds: Facts and gaps. *Trends in Food Science and Technology*, *48*, 1–12.
378 <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.11.008>
- 379 McGuire, R. G. (1992). Reporting of objective color measurements. *HortScience*, *27*(12), 1254–1255.
380 <https://doi.org/10.21273/hortsci.27.12.1254>
- 381 Obenland, D., Collin, S., Sievert, J., Negm, F., & Arpaia, M. L. (2012). Influence of maturity and
382 ripening on aroma volatiles and flavor in ‘Hass’ avocado. *Postharvest Biology and Technology*,
383 *71*, 41–50. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2012.03.006>

- 384 Oladzadabbasabadi, N., Mohammadi Nafchi, A., Ghasemlou, M., Ariffin, F., Singh, Z., & Al-Hassan,
385 A. . (2022). Natural anthocyanins: Sources, extraction, characterization, and suitability for smart
386 packaging. *Food Packaging and Shelf Life*, 33, 100872. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2022.100872>
- 387 Palma, C., Lloret, L., Puen, A., Tobar, M., & Contreras, E. (2016). Production of carbonaceous
388 material from avocado peel for its application as alternative adsorbent for dyes removal. *Chinese*
389 *Journal of Chemical Engineering*, 24(4), 521–528. <https://doi.org/10.1016/j.cjche.2015.11.029>
- 390 Pedreschi, R., Hollak, S., Harkema, H., Otma, E., Robledo, P., Westra, E., Somhorst, D., Ferreyra, R.,
391 & Defilippi, B.G. (2016). Impact of postharvest ripening strategies on ‘Hass’ avocado fatty acid
392 profiles. *South African Journal of Botany*, 103, 32–35. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2015.09.012>
- 393 Price, M. L., Van Scoyoc, S., & Butler, L. G. (1978). A critical evaluation of the vanillin reaction as an
394 assay for tannin in sorghum grain. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 26(5), 1214-
395 1218. <https://doi.org/10.1021/jf60219a031>
- 396 Quintão, J. C., Patrício, P. R., Veloso, A. C. G., de Carvalho, R. M. M., da Silva, L. H. M., &
397 Hespanhol, M. C. (2017). Liquid-liquid equilibrium of the ternary ammonium salt +
398 poly(propylene glycol) + water system. *Fluid Phase Equilibria*, 442, 96–103.
399 <https://doi.org/10.1016/j.fluid.2017.03.018>
- 400 Rodríguez-Carpena, J. G., Morcuende, D., & Estévez, M. (2011). Avocado by-products as inhibitors of
401 color deterioration and lipid and protein oxidation in raw porcine patties subjected to chilled
402 storage. *Meat Science*, 89(2), 166–173. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2011.04.013>
- 403 Rodríguez-Salazar, N, & Valle-Guadarrama, S. (2020). Separation of phenolic compounds from roselle
404 (*Hibiscus sabdariffa*) calyces with aqueous two-phase extraction based on sodium citrate and
405 polyethylene glycol or acetone. *Separation Science and Technology*, 55, 2313-2324.
406 <https://doi.org/10.1080/01496395.2019.1634730>
- 407 Rosero, J. C., Cruz, S., Osorio, C., & Hurtado, N. (2019). Analysis of phenolic composition of

408 byproducts (seeds and peels) of avocado (*Persea americana* Mill.) cultivated in Colombia.
409 *Molecules*, 24(17), 3209. <https://doi.org/10.3390/molecules24173209>

410 Saavedra, J., Córdova, A., Navarro, R., Díaz-Calderón, P., Fuentealba, C., Astudillo-Castro, C.,
411 Toledo, L., Enrione, J., & Galvez, L. (2017). Industrial avocado waste: Functional compounds
412 preservation by convective drying process. *Journal of Food Engineering*, 198, 81–90.
413 <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2016.11.018>

414 Sadeghi, R., & Jahani, F.. (2012). Salting-in and salting-Out of water-soluble polymers in aqueous salt
415 solutions. *The Journal of Physical Chemistry B*, 116, 5234–5241.
416 <https://doi.org/10.1021/jp300665b>

417 Salcedo, R., Quiñones, Y., Melgarejo, L. M., Hernández, M., & Fernández-Trujillo, J. P. (2018).
418 Variation in the fatty acid profile and quality of ‘Hass’ avocados preserved during cold storage.
419 *Acta Horticulturae*, 1194, 1007-1010. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2018.1194.143>

420 Sierra, N. M., Londoño, A., Gómez, J. M., Herrera, A. O., & Castellanos, D. A. (2019). Evaluation and
421 modeling of changes in shelf life, firmness and color of ‘Hass’ avocado depending on storage
422 temperature. *Food Science and Technology International*, 25(5), 370-384.
423 <https://doi.org/10.1177/1082013219826825>

424 Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-
425 phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.

426 Terasawa, N., Sakakibara, M., Murata, M. (2006). Antioxidative Activity of Avocado Epicarp Hot
427 Water Extract. *Food Science and Technology Research*, 12(1), 55–58.
428 <https://doi.org/10.3136/fstr.12.55>

429 Valle-Guadarrama, S., Morales-Cabrera, M., Peña-Valdivia, C. B., Mora-Rodríguez, B., Alia-Tejagal,
430 I., Corrales-García, J., & Gómez-Cruz, A. (2013). Oxidative/fermentative behavior in the flesh of

431 'Hass' avocado fruits under natural and controlled atmosphere conditions. *Food and Bioprocess*
432 *Technology*, 6(1), 272-282. <https://doi.org/10.1007/s11947-011-0747-8>

433 Vargas-Torrico, M. F., von Borries-Medrano, E., Valle-Guadarrama, S., & Aguilar-Méndez, M. A.
434 (2022). Development of gelatin-carboxymethylcellulose coatings incorporated with avocado
435 epicarp and coconut endocarp extracts to control fungal growth in strawberries for shelf-life
436 extension. *CyTA - Journal of Food*, 20(1), 27–38.
437 <https://doi.org/10.1080/19476337.2021.2024607>

438 Vázquez-Cruz, F., Rodríguez-Rodríguez, C., Morales-Fernandez, S.D., Ibáñez-Martínez, A., Jesuita-
439 Pérez, Marroquín, G., & Berdeja-Arbeu, R. (2018). Residuos industriales para incrementar la
440 capacidad de retención de humedad en un sustrato arenoso. *Acta Agrícola y Pecuaria*, 4(2), 54-
441 59. <https://doi.org/10.30973/aap/2018.4.2/4>

442 Vekari, S. A., Papadopoulou, P. P., Lionakis, S., & Krystallis, A. (2004). Variation in the composition
443 of Cretan avocado cultivars during ripening. *Journal of the Science of Food and Agriculture*,
444 84(5), 485–492. <https://doi.org/10.1002/jsfa.1595>

445 Villa-Rodríguez, J. A., Molina-Corral, F. J., Ayala-Zavala, J. F., Olivas, G. I., & González-Aguilar, G.
446 A. (2011). Effect of maturity stage on the content of fatty acids and antioxidant activity of 'Hass'
447 avocado. *Food Research International*, 44(5), 1231–1237.
448 <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.11.012>

449 Wang, D., Yeats, T. H., Uluisik, S., Rose, J. K. C. & Seymour, G. B. (2018). Fruit softening: revisiting
450 the role of pectin. *Trends in Plant Science*, 23 (4), 302-310.
451 <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2018.01.006>

452 Wang, W., Bostic, T. R., & Gu, L. (2010). Antioxidant capacities, procyanidins and pigments in
453 avocados of different strains and cultivars. *Food Chemistry*, 122(4), 1193–1198.
454 <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.03.114>

- 455 Woolf, A. B., Wibisono, R., Farr, J., Hallett, I., Richter, L., Oey, I., Wohlers, M., Zhou, J., Fletcher, G.
456 C., & Requejo-Jackman, C. (2013). Effect of high pressure processing on avocado slices.
457 *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 18(1), 65–73.
458 <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2013.02.011>
- 459 Zhang, W., Hu, Y., Wang, Y., Han, J., Ni, L., & Wu, Y. (2013). Liquid-liquid equilibrium of aqueous
460 two-phase systems containing poly(ethylene glycol) of different molecular weights and several
461 ammonium salts at 298.15 K. *Thermochimica Acta*, 560, 47–54.
462 <https://doi.org/10.1016/j.tca.2013.02.015>
463

464

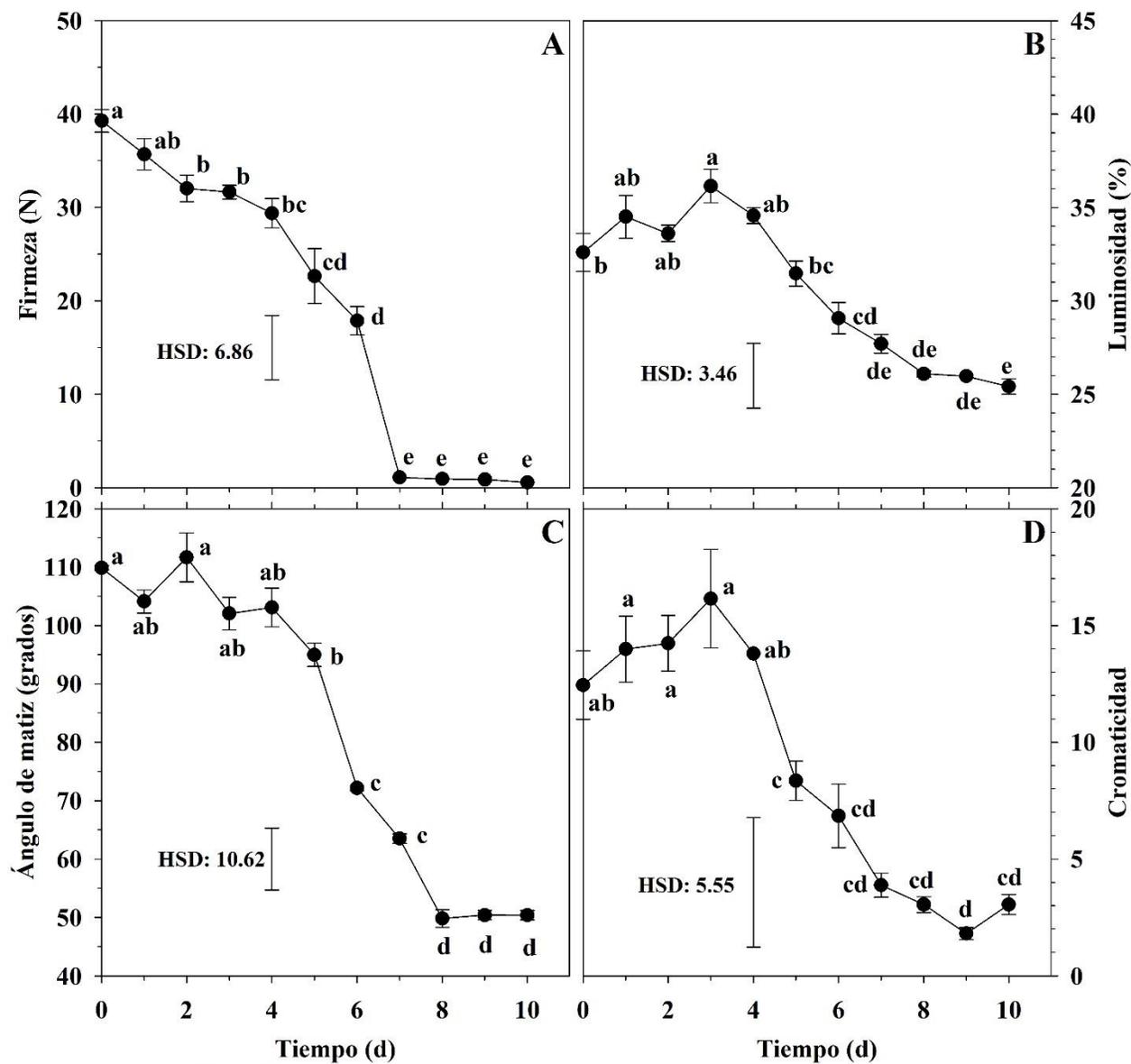
465 **Cuadro 1.** Parámetros fisicoquímicos del epicarpio del fruto de aguacate ‘Hass’ en madurez de
466 consumo y madurez fisiológica (base seca).

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

467 Medias seguidas con la misma letra dentro de filas no son estadísticamente diferentes con base a la
468 prueba de Tukey ($p \leq 0.05$) ± desviación estándar.

469

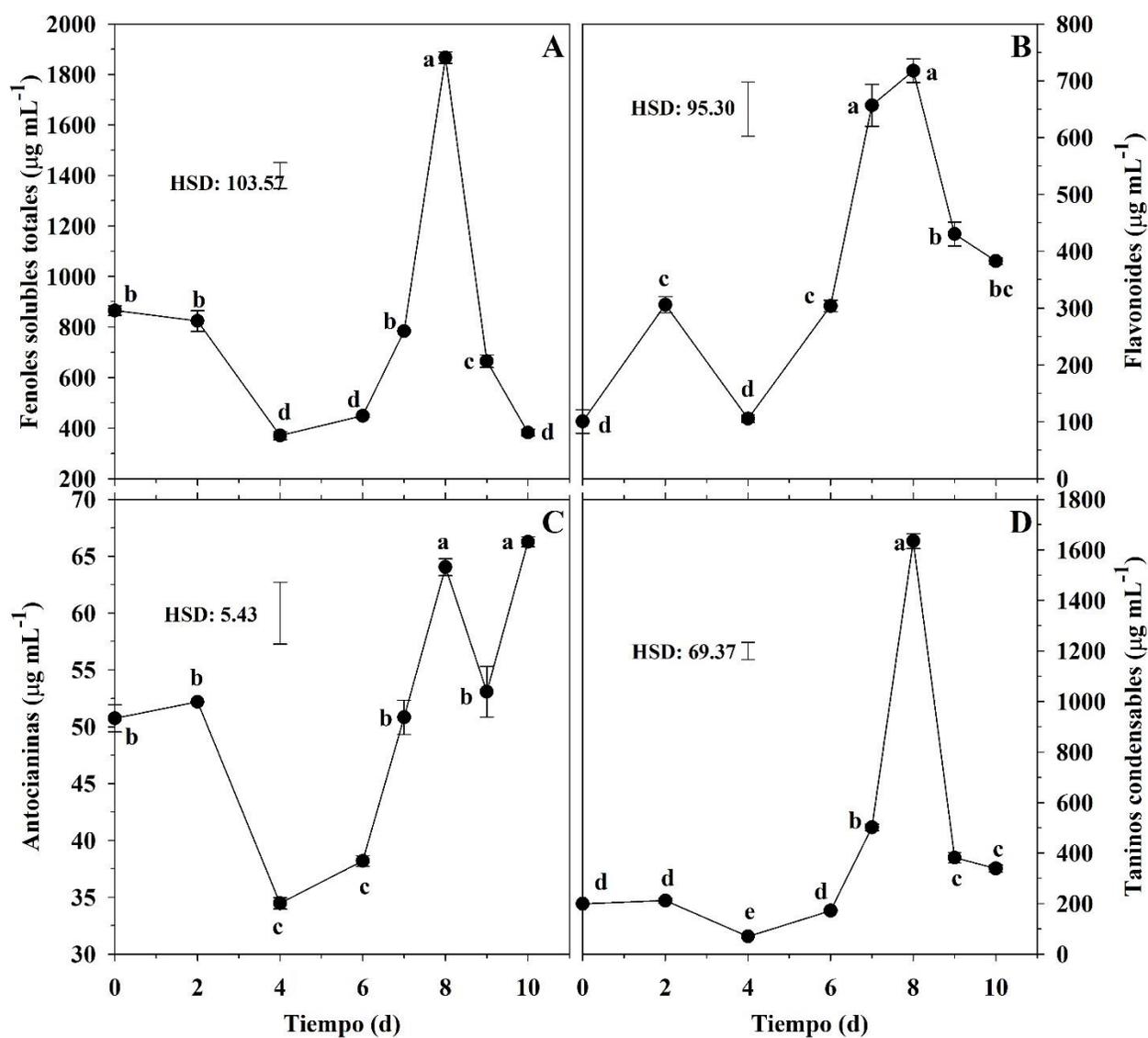
470



472

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

476



478

479 **Figura 2.** Cambios en la composición fitoquímica del epicarpio de frutos de aguacate ‘Hass’ a lo largo

480 de la maduración en postcosecha. Letras distintas indican diferencia significativa (Tukey, 0.05). HSD:

481 Diferencia significativa honesta. Las barras de error corresponden a errores estándar.

482