

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA
FACULTAD DE INGENIERÍA
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL



TESIS PARA OBTENER EL TITULO PROFESIONAL DE
INGENIERO AGROINDUSTRIAL
“OPTIMIZACIÓN DE LA EXTRACCIÓN DE COMPUESTOS
FENÓLICOS ASISTIDA POR ULTRASONIDO EN RESIDUOS DE
PALTA HASS (*Persea americana*)”

PRESENTADO POR

Bach. BECERRA CAMPOS GABRIELA BRIGITTE

Bach. MONZON CONTRERAS LISBETH

ASESORA

Dra. AGUIRRE VARGAS ELZA BERTA

NUEVO CHIMBOTE - PERÚ

2019



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA
FACULTAD DE INGENIERIA
ESCUELA ACADEMICA PROFESIONAL DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL



HOJA DE CONFORMIDAD DE ASESOR

El presente trabajo de tesis titulado: **“OPTIMIZACIÓN DE LA EXTRACCIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS ASISTIDA POR ULTRASONIDO EN RESIDUOS DE PALTA HASS (*Persea americana*)”**. Ha contado con el asesoramiento de quien deja constancia de su aprobación. Por tal motivo, firmo el presente trabajo en calidad de asesor designado por **RESOLUCIÓN DECANATURAL N° 585-2018-UNS-FI**.

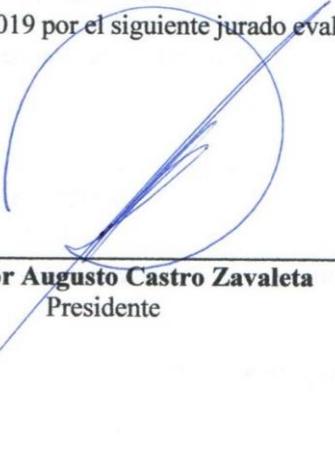
DRA. ELZA BERTA AGUIRRE VARGAS
ASESORA

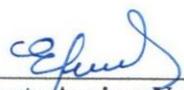
UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA
FACULTAD DE INGENIERÍA
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL



HOJA DEL AVAL DEL JURADO EVALUADOR

El presente trabajo de tesis titulado “**OPTIMIZACIÓN DE LA EXTRACCIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS ASISTIDA POR ULTRASONIDO EN RESIDUOS DE PALTA HASS (*Persea americana*)**”, para obtener el título profesional de Ingeniero Agroindustrial, presentado por Bach. BECERRA CAMPOS GABRIELA BRIGITTE y Bach. MONZON CONTRERAS LISBETH que tienen como asesor a la docente Dra. Elza Berta Aguirre Vargas designado por resolución decanal N° 585-2018-UNS-FI. Ha sido revisado y aprobado el día 13 de Diciembre del 2019 por el siguiente jurado evaluador, designado mediante resolución N° 585 -2019-UNS-CFI.


Dr. Victor Augusto Castro Zavaleta
Presidente


Dra. Elza Berta Aguirre Vargas
Secretaria


Ing. Vicente Carranza Varas
Integrante



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA
FACULTAD DE INGENIERÍA
E.P. DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL



ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Siendo las 10:00 a.m., del trece de Diciembre del dos mil diecinueve se instaló en el Auditorio de la Escuela Académica Profesional de Ingeniería Agroindustrial, el Jurado Evaluador, designado mediante resolución N° 585-2019-UNS-CFI integrado por los docentes:

- **Dr. Victor Augusto Castro Zavaleta** (Presidenta)
- **Dra. Elza Berta Aguirre Vargas** (Secretaria)
- **Ing. Vicente Carranza Vara** (Integrante); para inicio a la Sustentación y Evaluación de Tesis, titulada:

“OPTIMIZACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS ASISTIDA POR ULTRASONIDO EN RESIDUOS DE PALTA HASS (*Persea Americana*)”, elaborada por los bachilleres en Ingeniería Agroindustrial.

GABRIELA BRIGITTE BECERRA CAMPOS
LISBETH MONZON CONTRERAS

Asimismo, tienen como Asesor al docente: **Dra. Elza Berta Aguirre Vargas**

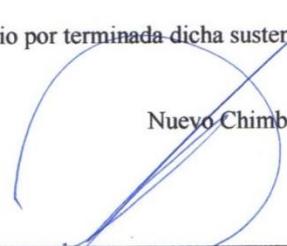
Finalizada la sustentación, los Tesisistas respondieron las preguntas formuladas por los miembros del Jurado y el Público presente.

El Jurado después de deliberar sobre aspectos relacionados con el trabajo, contenido y sustentación del mismo, y con las sugerencias pertinentes y en concordancia con el Artículo 103° del Reglamento de Grados y títulos de la Universidad Nacional del Santa, declaran:

| BACHILLER | PROMEDIO VIGESIMAL | PONDERACIÓN |
|---|--------------------|-------------|
| GABRIELA BRIGITTE BECERRA CAMPOS | 18 | Muy bueno |

Siendo las 11:30 a.m. del mismo día, se dio por terminada dicha sustentación, firmando en señal de conformidad el presente jurado.

Nuevo Chimbote, 13 de Diciembre del 2019.



Dr. Víctor Augusto Castro Zavaleta
Presidente



Dra. Elza Berta Aguirre Vargas
Secretaria



Ing. Vicente Carranza Vara
Integrante



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA
FACULTAD DE INGENIERÍA
E.P. DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL



ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Siendo las 10:00 a.m., del trece de Diciembre del dos mil diecinueve se instaló en el Auditorio de la Escuela Académica Profesional de Ingeniería Agroindustrial, el Jurado Evaluador, designado mediante resolución N° 585-2019-UNS-CFI integrado por los docentes:

- **Dr. Victor Augusto Castro Zavaleta** (Presidenta)
- **Dra. Elza Berta Aguirre Vargas** (Secretaria)
- **Ing. Vicente Carranza Vara** (Integrante); para inicio a la Sustentación y Evaluación de Tesis, titulada:

“OPTIMIZACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS ASISTIDA POR ULTRASONIDO EN RESIDUOS DE PALTA HASS (Persea Americana)” elaborada por los bachilleres en Ingeniería Agroindustrial.

GABRIELA BRIGITTE BECERRA CAMPOS
LISBETH MONZON CONTRERAS

Asimismo, tienen como Asesor al docente: **Dra. Elza Berta Aguirre Vargas**

Finalizada la sustentación, los Tesistas respondieron las preguntas formuladas por los miembros del Jurado y el Público presente.

El Jurado después de deliberar sobre aspectos relacionados con el trabajo, contenido y sustentación del mismo, y con las sugerencias pertinentes y en concordancia con el Artículo 103° del Reglamento de Grados y títulos de la Universidad Nacional del Santa, declaran:

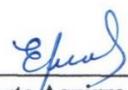
| BACHILLER | PROMEDIO VIGESIMAL | PONDERACIÓN |
|--------------------------|--------------------|-------------|
| LISBETH MONZON CONTRERAS | 18 | Muy bueno |

Siendo las 11:30 a.m. del mismo día, se dio por terminada dicha sustentación, firmando en señal de conformidad el presente jurado.

Nuevo Chimbote, 13 de Diciembre del 2019.



Dr. Victor Augusto Castro Zavaleta
Presidente



Dra. Elza Berta Aguirre Vargas
Secretaria



Ing. Vicente Carranza Vara
Integrante

OPTIMIZACION DE LA EXTRACCION DE COMPUESTOS FENOLICOS ASISTIDA POR ULTRASONIDO EN RESIDUOS DE PALTA HASS (Persea Americana)

por Gabriela - Lisbeth Becerra C.- Monzon C.

Fecha de entrega: 07-oct-2019 05:51p.m. (UTC-0500)

Identificador de la entrega: 1188132694

Nombre del archivo: TESIS_LIS_Y_GABI.pdf (4.47M)

Total de palabras: 19269

Total de caracteres: 105351

OPTIMIZACION DE LA EXTRACCION DE COMPUESTOS FENOLICOS ASISTIDA POR ULTRASONIDO EN RESIDUOS DE PALTA HASS (Persea Americana)

INFORME DE ORIGINALIDAD

| | | | |
|---------------------|---------------------|---------------|-------------------------|
| 19% | 13% | 3% | 16% |
| INDICE DE SIMILITUD | FUENTES DE INTERNET | PUBLICACIONES | TRABAJOS DEL ESTUDIANTE |

FUENTES PRIMARIAS

| | | |
|----------|--|-----------|
| 1 | tesis.pucp.edu.pe Fuente de Internet | 4% |
| 2 | Submitted to Pontificia Universidad Catolica del Peru Trabajo del estudiante | 1% |
| 3 | repositorio.uns.edu.pe Fuente de Internet | 1% |
| 4 | ciatej.repositorioinstitucional.mx Fuente de Internet | 1% |
| 5 | Submitted to Universidad Nacional del Centro del Peru Trabajo del estudiante | 1% |
| 6 | Submitted to UNIV DE LAS AMERICAS Trabajo del estudiante | 1% |
| 7 | Submitted to Universidad Nacional del Santa Trabajo del estudiante | 1% |

DEDICATORIA

En especial grado a Dios, quién me ha acompañado a lo largo de toda mi vida, quien me dio fuerza y serenidad en todo momento, y quien me ha guiado durante cada día de mi vida

A mis padres, por todo su amor y cariño, y quienes con su ejemplo me motivaron a cumplir mis metas y quienes seguirán siendo mi motivo de cada logro en la vida, a ustedes por siempre mi corazón y mi agradecimiento eterno.

GABRIELA BRIGITTE BECERRA CAMPOS.

A Dios por darme vida, salud y por permitirme lograr mis objetivos; a mis padres, hermanos y especialmente a mi hermana Ingri. por su apoyo incondicional durante toda mi vida y que sin apoyo y amor no hubiera logrado cumplir esta meta.

LISBETH MONZON CONTRERAS.

AGRADECIMIENTOS

A nuestra asesora la Dra. Elsa Aguirre Vargas, por su apoyo y conocimiento brindado, desde un primer momento, lo que nos ha permitido culminar con éxito este proyecto de tesis.

A la Universidad Nacional del Santa y la E.P de Ingeniería Agroindustrial por brindarnos los ambientes necesarios y a nuestros docentes por sus enseñanzas y guía en nuestra formación profesional.

Los Autores.

ÍNDICE GENERAL

| | |
|---|----|
| CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN | 21 |
| CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO | 23 |
| 2.1. PALTA HASS..... | 23 |
| 2.1.1. DEFINICIÓN | 23 |
| 2.1.2. ORIGEN DE LA PALTA HASS | 24 |
| 2.1.3. TAXONOMÍA | 25 |
| 2.1.4. COMPOSICIÓN QUÍMICA PROXIMAL..... | 25 |
| 2.1.5. VALOR NUTRICIONAL..... | 26 |
| 2.1.6. PRODUCCION Y EXPORTACION DE LA PALTA HASS | 26 |
| 2.1.7. POSICIONAMIENTO EN EL MUNDO..... | 28 |
| 2.1.8. CONTENIDO DE POLIFENOLES EN PALTA HASS | 29 |
| 2.2. METODOS DE EXTRACCION | 29 |
| 2.2.1. EXTRACCION CONVENCIONAL SOLIDO- LIQUIDO..... | 30 |
| 2.2.2. EXTRACCIÓN NO CONVENCIONAL..... | 31 |
| 2.3. COMPUESTOS FENOLICOS | 36 |
| 2.3.1. CLASIFICACION DE COMPUESTOS FENOLICOS..... | 37 |
| 2.3.2. CLASIFICACION DE COMPUESTOS FENOLICOS EN ALIMENTOS .. | 39 |
| 2.3.3. COMPUESTOS FENOLICOS EN RESIDUOS DE PALTA HASS | 41 |
| 2.3.4. EXTRACCION DE COMPUESTOS FENOLICOS | 41 |
| 2.3.5. ANTIOXIDANTES | 42 |

| | |
|--|----|
| CAPÍTULO III: MATERIALES Y MÉTODOS..... | 44 |
| 3.1. MATERIA PRIMA..... | 44 |
| 3.2. REACTIVOS | 44 |
| 3.3. EQUIPOS Y MATERIALES..... | 45 |
| 3.3.1. EQUIPOS | 45 |
| 3.3.2. MATERIALES COMPLEMENTARIOS | 45 |
| 3.4. ANÁLISIS..... | 46 |
| 3.4.1. ANÁLISIS QUÍMICO PROXIMAL | 46 |
| 3.4.2. DETERMINACIÓN DE POLIFENOLES TOTALES | 47 |
| 3.5. METODOLOGÍA | 47 |
| 3.5.1. PROCESO DE OBTENCIÓN DE HARINA A BASE DE RESIDUOS DE PALTA HASS..... | 47 |
| 3.5.2. PROCESO DE DETERMINACION DE COMPUESTOS FENOLICOS EN EXTRACTOS DE RESIDUOS DE PALTA HASS | 48 |
| 3.5.3. PROCESO PARA LA OPTIMIZACION DE COMPUESTOS FENOLICOS TOTALES | 53 |
| CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIONES | 60 |
| 4.1. ANÁLISIS QUÍMICO PROXIMAL | 60 |
| 4.2. CALIBRACIÓN DEL MÉTODO..... | 62 |
| 4.3. EXTRACCIÓN ASISTIDA POR ULTRASONIDO DE CÁSCARA DE PALTA HASS | |

| | | |
|--|---|----|
| 4.3.1. | EFECTO DE LA CONCENTRACIÓN DE SOLVENTE EN LA EXTRACCIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS | 63 |
| 4.3.2. | EFECTO DE LA TEMPERATURA EN LA EXTRACCIÓN DE COMPUESTOS FENOLICOS | 68 |
| 4.3.3. | EFECTO DEL TIEMPO EN LA EXTRACCIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS | 71 |
| 4.3.4. | OPTIMIZACIÓN DE LAS CONDICIONES DE EXTRACCIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS TOTALES EN RESIDUOS DE PALTA HASS | 74 |
| 4.4. | ANÁLISIS DE ANTIOXIDANTES DE CASCARA Y SEMILLA DE PALTA HASS | 87 |
| CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES | | 90 |
| 5.1. | CONCLUSIONES | 90 |
| 5.2. | RECOMENDACIONES | 91 |
| CAPÍTULO VI: REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS | | 92 |
| CAPÍTULO VII. ANEXOS | | 97 |

ÍNDICE DE TABLAS

| | |
|---|----|
| TABLA 1.. HUMEDAD NATURAL Y COMPOSICIÓN QUÍMICA PROXIMAL DE LA PULPA DE AGUACATE (G%) | 25 |
| TABLA 2. CONTENIDO DE POLIFENOLES TOTALES Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE (DPPH, ABTS, FRAP AND ROS) DE CASCARA Y SEMILLA DE PALTA VARIEDAD HASS Y FUERTE..... | 29 |

| | |
|--|----|
| TABLA 4 ESTRUCTURAS DE PRINCIPALES FLAVONOIDES PRESENTES EN ALIMENTOS..... | 40 |
| TABLA 5. PROPORCIONES DE LA CURVA PATRON..... | 50 |
| TABLA 6.CONDICIONES DE CONCENTRACIÓN DE SOLVENTE UTILIZADAS PARA LA EXTRACCIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS DE CASCARA DE PALTA HASS | 53 |
| TABLA 7. CONDICIONES DE CONCENTRACIÓN DE SOLVENTE UTILIZADAS PARA LA EXTRACCIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS DE SEMILLA DE PALTA HASS | 54 |
| TABLA 8. CONDICIONES DE TEMPERATURA EN LA EXTRACCIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS DE CASCARA DE PALTA HASS | 55 |
| TABLA 9. CONDICIONES DE TEMPERATURA EN LA EXTRACCIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS DE SEMILLA DE PALTA HASS | 56 |
| TABLA 10. CONDICIONES DE TIEMPO DE EXTRACCIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS DE CASCARA DE PALTA HASS | 56 |
| TABLA 11. CONDICIONES DE TIEMPO DE EXTRACCIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS DE SEMILLA DE PALTA HASS..... | 57 |
| TABLA 12. VARIABLES DEL DISEÑO EXPERIMENTAL DE LA EXTRACCIÓN ASISTIDA POR ULTRASONIDO DE CASCARA DE PALTA HASS..... | 58 |
| TABLA 13. VARIABLES DEL DISEÑO EXPERIMENTAL DE LA EXTRACCIÓN ASISTIDA POR ULTRASONIDO DE SEMILLA DE PALTA HASS | 58 |
| TABLA 14. ANÁLISIS QUÍMICO PROXIMAL DE LOS RESIDUOS DE PALTA HASS (PERSEA AMERICANA) (G/100G)..... | 60 |
| TABLA 15. VALORES DE LA CURVA DE CALIBRADO..... | 62 |

| | |
|---|-----|
| TABLA 16. CONTENIDO DE COMPUESTOS FENÓLICOS DE CASCARA Y SEMILLA DE PALTA HASS EXTRAÍDOS A DIFERENTES CONCENTRACIONES DE SOLVENTE | 64 |
| TABLA 17. CONTENIDO DE COMPUESTOS FENÓLICOS DE CASCARA Y SEMILLA DE PALTA HASS EXTRAÍDOS A DIFERENTES TEMPERATURAS | 68 |
| TABLA 18. CONTENIDO DE COMPUESTOS FENÓLICOS DE CASCARA Y SEMILLA DE PALTA HASS EXTRAÍDOS A DIFERENTES TEMPERATURAS | 71 |
| TABLA 19. ANÁLISIS DE VARIANZA PARA COMPUESTOS FENÓLICOS TOTALES DE LA CASCARA DE PALTA HASS | 75 |
| TABLA 20. COEFICIENTE DE REGRESIÓN PARA COMPUESTOS FENÓLICOS EN CASCARA DE PALTA HASS..... | 77 |
| TABLA 21. ANÁLISIS DE VARIANZA PARA COMPUESTOS FENÓLICOS TOTALES DE SEMILLA DE PALTA HASS EN LA EXTRACCIÓN ASISTIDA POR ULTRASONIDO | 78 |
| TABLA 22. COEFICIENTE DE REGRESIÓN PARA COMPUESTOS FENÓLICOS TOTALES EN SEMILLA DE PALTA HASS. | 80 |
| TABLA 23. CONDICIONES ÓPTIMAS DE EXTRACCIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS EN CASCARA Y SEMILLA DE PALTA HASS..... | 85 |
| TABLA 24. CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE SEMILLA Y CASCARA DE PALTA | 88 |
| TABLA 25. ANÁLISIS DE HUMEDAD EN CASCARA DE PALTA HASS | 100 |
| TABLA 26. ANÁLISIS DE HUMEDAD EN SEMILLA DE PALTA HASS | 101 |
| TABLA 27. ANALISIS DE CENIZA EN CASCARA DE PALTA HASS..... | 102 |
| TABLA 28. ANALISIS DE CENIZA EN SEMILLA DE PALTA HASS..... | 102 |
| TABLA 29. ANALISIS DE GRASA EN CASCARA DE PALTA HASS..... | 102 |
| TABLA 30. ANALISIS DE GRASA EN SEMILLA DE PALTA HASS | 103 |

| | |
|--|-----|
| TABLA 31. ANALISIS DE PROTEINA EN CASCARA DE PALTA HASS..... | 104 |
| TABLA 32. ANALISIS DE PROTEINA EN SEMILLADE PALTA HASS | 104 |
| TABLA 33. ANALISIS DE FIBRA EN CASCARA DE PALTA HASS..... | 105 |
| TABLA 34. ANALISIS DE FIBRA EN SEMILLA DE PALTA HASS | 105 |
| TABLA 35. RESUMEN ESTADÍSTICO DE LA CONCENTRACIÓN DE SOLVENTE EN CASCARA (MGGAE/G)..... | 107 |
| TABLA 36. ANÁLISIS ESTADÍSTICO (ANOVA) PARA LA COMPARACIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DE SOLVENTE PARA LOS COMPUESTOS FENÓLICOS DE CASCARA | 108 |
| TABLA 37. RESUMEN ESTADÍSTICO DE LA CONCENTRACIÓN DE SOLVENTE EN SEMILLA (MGGAE/G) | 108 |
| TABLA 38. ANÁLISIS ESTADÍSTICO (ANOVA) PARA LA COMPARACIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DE SOLVENTE PARA LOS COMPUESTOS FENÓLICOS DE SEMILLA..... | 109 |
| TABLA 39. RESUMEN ESTADÍSTICO DE LA TEMPERATURA EN CASCARA (MGGAE/G)..... | 109 |
| TABLA 40. ANÁLISIS ESTADÍSTICO (ANOVA) PARA LA COMPARACIÓN DE LAS TEMPERATURA PARA LOS COMPUESTOS FENÓLICOS DE CASCARA | 110 |
| TABLA 41. RESUMEN ESTADÍSTICO DE LA TEMPERATURA EN SEMILLA (MGGAE/G)..... | 110 |
| TABLA 42. ANÁLISIS ESTADÍSTICO (ANOVA) PARA LA COMPARACIÓN DE LAS TEMPERATURA PARA LOS COMPUESTOS FENÓLICOS DE SEMILLA..... | 111 |
| TABLA 43. RESUMEN ESTADÍSTICO DEL TIEMPO EN CASCARA (MGGAE/G)..... | 111 |
| TABLA 44. ANÁLISIS ESTADÍSTICO (ANOVA) PARA LA COMPARACIÓN DEL TIEMPO PARA LOS COMPUESTOS FENÓLICOS DE CASCARA | 112 |

| | |
|--|-----|
| TABLA 45. RESUMEN ESTADÍSTICO DEL TIEMPO EN SEMILLAA (MGGAE/G) | 112 |
| TABLA 46. ANÁLISIS ESTADÍSTICO (ANOVA) PARA LA COMPARACIÓN DEL TIEMPO PARA LOS COMPUESTOS FENÓLICOS DE SEMILLA..... | 113 |
| TABLA 47. CORRIDAS PARA LA OPTIMIZACIÓN DE LA EXTRACCIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS DE CASCARA DE PALTA HASS..... | 116 |
| TABLA 48. CORRIDAS PARA LA OPTIMIZACIÓN DE LA EXTRACCIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS DE SENILLA DE PALTA HASS..... | 118 |
| TABLA 49. DATOS PARA LA CURVA DE CALIBRADO DE DPPH..... | 120 |
| TABLA 50. RESULTADOS DE ANÁLISIS DE CAPACIDAD ANTIOXIDANTE EN SEMILLA Y CASCARA DE PALTA HASS | 121 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| FIGURA 1. ARBOL DE PALTA HASS | 23 |
| FIGURA 2. PALTA VARIEDAD HASS | 24 |
| FIGURA 3. TAXONOMÍA DE PERSEA AMERICANA MILL | 25 |
| FIGURA 4. INFORMACION NUTRICIONAL DE PALTA HASS | 26 |
| FIGURA 5: EXPORTACIONES DE AGUACATE DEL AÑO 2017 Y 2018 (MAYO)..... | 27 |
| FIGURA 6: AGUACATE – PALTAS PERÚ EXPORTACIÓN 2018 MAYO | 28 |
| FIGURA 7. PRINCIPIO DE CAVITACIÓN ACÚSTICA | 34 |
| FIGURA 8. REPRESENTACIÓN GRÁFICA DEL FENÓMENO DE CAVITACIÓN, COLAPSO Y LIBERACIÓN DEL MATERIAL VEGETAL..... | 35 |
| FIGURA 9. CLASIFICACIÓN DE LOS COMPUESTOS POLIFENÓLICOS (D’ ARCHIVIO, M. Y COL., 2007 CITADO POR BASS .Q, 2014) | 38 |
| FIGURA 11. PROCESO DE DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS EN EXTRACTOS DE RESIDUOS DE PALTA HASS | 52 |
| FIGURA 12. CURVA DE CALIBRADO DE ACIDO GÁLICO | 63 |

| | |
|---|----|
| FIGURA 13. EFECTO DE LA CONCENTRACIÓN DE SOLVENTE EN EL CONTENIDO DE COMPUESTOS FENÓLICOS DE CÁSCARA DE PALTA HASS, BAJO CONDICIONES DE EXTRACCIÓN A 50°C Y 60 MINUTOS..... | 65 |
| FIGURA 14. EFECTO DE LA CONCENTRACIÓN DE SOLVENTE EN EL CONTENIDO DE COMPUESTOS FENÓLICOS DE LA SEMILLA DE PALTA HASS, BAJO CONDICIONES DE EXTRACCIÓN A 50°C Y 60 MINUTOS. | 66 |
| FIGURA 15. EFECTO DE LA TEMPERATURA EN EL CONTENIDO DE COMPUESTOS FENÓLICOS DE CÁSCARA DE PALTA HASS, BAJO CONDICIONES DE EXTRACCIÓN A UNA CONCENTRACIÓN DE 50% Y 60 MINUTOS..... | 69 |
| FIGURA 16. EFECTO DE LA TEMPERATURA EN EL CONTENIDO DE COMPUESTOS FENÓLICOS DE CÁSCARA DE PALTA HASS, BAJO CONDICIONES DE EXTRACCIÓN A UNA CONCENTRACIÓN DE 40% Y 60 MINUTOS..... | 69 |
| FIGURA 17. EFECTO DEL TIEMPO EN EL CONTENIDO DE COMPUESTOS FENÓLICOS DE CÁSCARA DE PALTA HASS, BAJO CONDICIONES DE EXTRACCIÓN A UNA CONCENTRACIÓN DE 50% A 50°C..... | 72 |
| FIGURA 18. EFECTO DEL TIEMPO EN EL CONTENIDO DE COMPUESTOS FENÓLICOS DE CÁSCARA DE PALTA HASS, BAJO CONDICIONES DE EXTRACCIÓN A UNA CONCENTRACIÓN DE 40% A 50°C..... | 72 |
| FIGURA 19. DIAGRAMA DE PARETO ESTANDARIZADA PARA COMPUESTOS FENÓLICOS DE CÁSCARA DE PALTA HASS | 76 |
| FIGURA 20. DIAGRAMA DE PARETO ESTANDARIZADA PARA COMPUESTOS FENÓLICOS TOTALES EN SEMILLA DE PALTA HASS. | 79 |
| FIGURA 21. A) GRÁFICA DE SUPERFICIE DE RESPUESTA DE TEMPERATURA, TIEMPO Y COMPUESTOS FENÓLICOS TOTALES DE CASCARA DE PALTA HASS | |

| | |
|---|-----|
| B) GRAFICA DE SUPERFICIE DE RESPUESTA DE TEMPERATURA, TIEMPO Y COMPUESTOS FENÓLICOS TOTALES DE SEMILLA DE PALTA HASS..... | 81 |
| FIGURA 22. C) GRÁFICA DE SUPERFICIE DE RESPUESTA DE CONCENTRACIÓN DE SOLVENTE, TIEMPO Y COMPUESTOS FENÓLICOS TOTALES DE CASCARA DE PALTA HASS. D) GRAFICA DE SUPERFICIE DE RESPUESTA DE CONCENTRACIÓN DE SOLVENTE, TIEMPO Y COMPUESTOS FENÓLICOS TOTALES DE SEMILLA DE PALTA HASS. | 83 |
| FIGURA 23. E) GRÁFICA DE SUPERFICIE DE RESPUESTA DE TEMPERATURA, CONCENTRACIÓN DE SOLVENTE Y COMPUESTOS FENÓLICOS TOTALES DE CASCARA DE PALTA HASS. F) GRÁFICA DE SUPERFICIE DE RESPUESTA DE TEMPERATURA, CONCENTRACIÓN DE SOLVENTE Y COMPUESTOS FENÓLICOS TOTALES DE SEMILLA DE PALTA HASS. | 84 |
| FIGURA 24. RECEPCIÓN DE MATERIAL PRIMA | 97 |
| FIGURA 25. LAVADO Y DESINFECCIÓN | 97 |
| FIGURA 26. DESPULPADO Y EXTRACCION DE SEMILLA..... | 97 |
| FIGURA 27. CORTADO..... | 98 |
| FIGURA 28. SECADO EN BANDEJAS | 98 |
| FIGURA 29. MOLIENDA Y TAMIZADO..... | 98 |
| FIGURA 30. ENVASADO DE MUESTRAS. | 99 |
| FIGURA 31. PESADO DE PLACAS | 100 |
| FIGURA 32. ANALISIS DE DETERMINACION DE CENIZA | 101 |
| FIGURA 33. DETERMINACION DE GRASA..... | 103 |
| FIGURA 34. ANALISIS DE PROTEINA..... | 103 |
| FIGURA 35. ANALISIS DE FIBRA..... | 105 |

| | |
|--|-----|
| FIGURA 36. EXTRACTOS OBTENIDOS A TEMPERATURA DE 40 °C, CON DIFERENTES CONCENTRACIÓN DE SOLVENTE Y TIEMPO..... | 113 |
| FIGURA 37. EXTRACTOS OBTENIDOS A TEMPERATURA DE 50 °C, CON DIFERENTES CONCENTRACIÓN DE SOLVENTE Y TIEMPO..... | 113 |
| FIGURA 38. EXTRACTOS OBTENIDOS A TEMPERATURA DE 60°C , A DIFERENTES TIEMPO Y CONCENTRACIÓN DE SOLVENTE | 114 |
| FIGURA 39. EXTRACTOS OBTENIDOS A TEMPERATURA DE 50°C , A DIFERENTES TIEMPO Y CONCENTRACIÓN DE SOLVENTE..... | 114 |
| FIGURA 40. EXTRACTOS OBTENIDOS A TEMPERATURA DE 60°C, A DIFERENTES TIEMPO Y CONCENTRACIÓN DE SOLVENTE..... | 114 |
| FIGURA 41. EXTRACTOS OBTENIDOS A TEMPERATURA DE 60°C, A DIFERENTES TIEMPO Y CONCENTRACIÓN DE SOLVENTE..... | 115 |
| FIGURA 42. CURVA DE CALIBRADO DE TROLOZ PARA DPPH | 120 |
| FIGURA 43. DILUCION DE MUESTRAS | 121 |
| FIGURA 44. SE AGREGO EL REACTIVO TROLOX, COLOCAR AL ULTRASONIDO POR 1 HORA, LUEGO AGITAR..... | 121 |
| FIGURA 45. CURVA DE CALIBRADO PARA DPPH..... | 122 |

ÍNDICE DE ANEXOS

| | |
|--|-----|
| ANEXO 1: PROCEDIMIENTO PARA LA OBTENCIÓN DE HARINA DE CASCARA Y SEMILLA DE PALTA HASS | 97 |
| ANEXO 2: ANALISIS DE COMPOSICIÓN QUÍMICA PROXIMAL DE CÁSCARA Y SEMILLA DE PALTA HASS | 100 |
| ANEXO 3: EXTRACCION ASISTIDA POR ULTRASONIDO..... | 107 |

| | |
|---|-----|
| ANEXO4: CONTENIDO DE COMPUESTOS FENÓLICOS EN CÁSCARA DE PALTA | |
| HASS..... | 116 |
| ANEXO 5: DETERMINACIÓN DE ANTIOXIDANTES..... | 120 |

RESUMEN

En la presente tesis de grado se tiene por objetivo general optimizar el método de extracción asistida por ultrasonido variando tiempo, temperatura y concentración de solvente, para obtener mayor cantidad de compuestos fenólicos en cáscara y semilla de palta Hass, el cual será determinado mediante el método de Folin Ciocalteu.

Se realizaron pruebas preliminares para determinar los parametros mas adecuados de la extraccion asistida por ultrasonido para la cascara y semilla de palta hass; para la cascara se encuentra en un rango de 40-60% de concentración de solvente, 40-60°C de temperatura durante 20- 80minutos. Los rangos más adecuados para la extracción en la semilla de palta Hass fueron: 30-50% de concentración de solvente, 40-60°C de temperatura durante 20-80 minutos.

Mediante el diseño estadístico Box-Behnken se determinaron las combinaciones a partir de los rangos obtenidos en las pruebas preliminares, para luego mediante la metodología de superficie de respuesta obtener la ecuación de modelo ajustado y mediante esta determinar los valores óptimos para la extracción de compuestos fenólicos.

Finalmente se determinó que las condiciones óptimas para la extracción de compuestos fueron en Cascara de palta Hass fueron de 49% de concentración de solvente, tiempo de 62 minutos y temperatura de 51°C; obteniéndose 123.623 mgGAE/g de compuestos fenólicos. Para la semilla las condiciones óptimas fueron 41% de concentración de solvente, tiempo de 66 minutos y temperatura de 46°C, obteniéndose 145.221 mgGAE/g de compuestos fenólicos

Palabras claves: compuestos fenólicos, ultrasonido, palta Hass

ABSTRACT

In this thesis, the general objective is to optimize the method of ultrasonic-assisted extraction by varying time, temperature and solvent concentration, in order to obtain a greater quantity of phenolic compounds in peel and seed Hass avocado, which will be automatically determined by the Ciocalteu Folin method.

Preliminary studies were carried out to determine the most appropriate parameters of the ultrasound-assisted extraction for the peel and seed of avocado Hass; for the peel it is in a range of solvent concentration between 40-60%, temperature between 40-60 ° C and 20-80minutes of the time. The most suitable ranges for extraction in Hass avocado seed were: solvent concentration between 30-50%, temperature between 40-60 ° C for 20-80 minutes. Through of the statistical Box-Behnken design, the combinations are determined from the ranges obtained in the preliminary studies, then through of the response surface methodology to obtain the equation of the standard model and by this determination the optimal values for the extraction of phenolic compounds .

Finally, it was determined that the optimum conditions for the extraction of compounds were in Hass avocado peel were 49% of solvent concentration, 62 minutes of time and 51°C of temperature; obtaining 123,623 mgGAE / g of phenolic compounds. For the seed the optimal conditions were 41% of solvent concentration, 66 minutes of time and 46°C of temperature, obtaining 145,221 mgGAE / g of phenolic compounds.

Keywords: Phenolic compounds, ultrasound, Hass avocado

CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN

Actualmente los residuos originados a partir del procesamiento de alimentos es un problema creciente para la industria alimentaria, que conduce a un aumento de la contaminación y pérdidas económicas. En la industria de la palta, la pulpa se utiliza, mientras que la piel y las semillas se desechan como residuos, siendo estos ricos en compuestos fenólicos con alto poder antioxidante y antimicrobiano. En la actualidad muchas investigaciones se han basado solamente en evaluar la cantidad de compuestos fenólicos que contienen la cascara y semilla de palta. Sin embargo, hay poca información acerca de la eficiencia del proceso de extracción de estos compuestos, siendo la extracción una de las etapas más importantes en la obtención de estos compuestos, debido a que de ello dependen sus propiedades y su calidad de compuestos fenólicos. Para extraer estos compuestos se utilizó la extracción asistida por ultrasonido, ya que se ha comprobado que es mucho más eficiente, rápida y económica en comparación con otros métodos.

El objetivo general de este trabajo fue optimizar el método de extracción asistida por ultrasonido variando tiempo, temperatura y concentración de solvente, para obtener mayor cantidad de compuestos fenólicos, el cual será determinado mediante el método de Folin Ciocalteu. Además de la cascara y semilla de Palta Hass, y como objetivos específicos: Determinar la composición química proximal de la harina de cáscara y semilla de Palta Hass, Determinar las condiciones más adecuadas de concentración de solvente, temperatura y tiempo en la extracción asistida por ultrasonido, para la optimización de compuestos fenólicos totales en cáscara y semilla de palta Hass, establecer las condiciones óptimas de concentración de solvente, temperatura y tiempo en la determinación del contenido de compuestos fenólicos, empleando la extracción

asistida por ultrasonido, con el uso del diseño de Box-Bunken de metodología de superficies repuestas, determinar la cantidad de compuestos fenólicos y antioxidantes extraídos bajo las condiciones de extracción óptimas.

Este trabajo se justifica que en investigaciones actuales se han basado solamente en evaluar la cantidad de compuestos fenólicos que contienen la cascara y semilla de palta. Sin embargo, hay poca información acerca de la eficiencia del proceso de extracción de estos compuestos, siendo la extracción una de las etapas más importantes en la obtención de estos compuestos, debido a que de ello dependen sus propiedades y su calidad de compuestos fenólicos. La extracción asistida por ultrasonido es conocida por ser más eficiente que los métodos tradicionales, y más económica y sencilla que los métodos de extracción no tradicionales. También, esta extracción con la finalidad de buscar métodos amigables con el medio ambiente, disminuir el consumo de solvente, acortar el tiempo de extracción, incrementar el rendimiento y mejorar la calidad de la extracción.

Los compuestos fenólicos presentes en la cascara y pepa de palta están asociados con efectos biológicos positivos tales como disminución del riesgo del cáncer de seno, próstata y colon; prevención de síntomas menstruales y la osteoporosis, tratamiento de artritis, enfermedades de riñón, etc. Además estos compuestos fenólicos tienen un amplio interés tecnológico por diversas aplicaciones industriales, teniendo gran futuro su uso en los alimentos funcionales, incorporándolos en productos que se consumen regularmente, con el fin de darle un valor agregado al efecto beneficioso para la salud del consumidor.

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

2.1. PALTA HASS

2.1.1. DEFINICIÓN

La palta es un fruto originario de América central y sur de México (Yahia, 2012). Se caracteriza por ser rico en aceite (Gómez-López, 2002 citado por Salvador R.) y ácidos grasos insaturados (Ariza et al., 2011; Donetti y Terry, 2014; Ferreyra et al., 2016, citados por Salvador R.).

La palta Hass posee un peso promedio de entre 200 y 300 gramos. La piel coriácea, rugosa y su color torna de verde al negro cuando la fruta se encuentra apta para consumo. La característica principal de esta variedad de palta es su calidad de transporte y su larga vida postcosecha. (Ministerio de Agricultura y Riego, 2016)



FIGURA 1. Arbol de palta Hass

Fuente: Tres Marias Green Export, s.f.

2.1.2. ORIGEN DE LA PALTA HASS

La palta Hass es la variedad mas comercial en el mundo, cuyo origen es del cruce de prgenitores desconocidos (pero más cercanos al guatemalteco), y fue Rudolph G. Hass quien logro esta variedad.

Actualmente en su mayoría viene de la union de dos y a veces de tres razas de la palta, y en la palta Hass entre el 10% y 15% de genes son mexicanos y el resto guatemalteco. El gen mexicano le da la poca adaptacion a climas mas templados, por lo que le da la posibilidad de crecer en una gran amplitud de altitudes. (Romero C., 2015)

La palta “Hass” es la variedad que esta adaptada a condiciones ecologicas de la costa y selva alta del Peru. Generalmente su produccion es para exportacion. (MINAGRI - DGPA, 2015; Romero C., 2015)

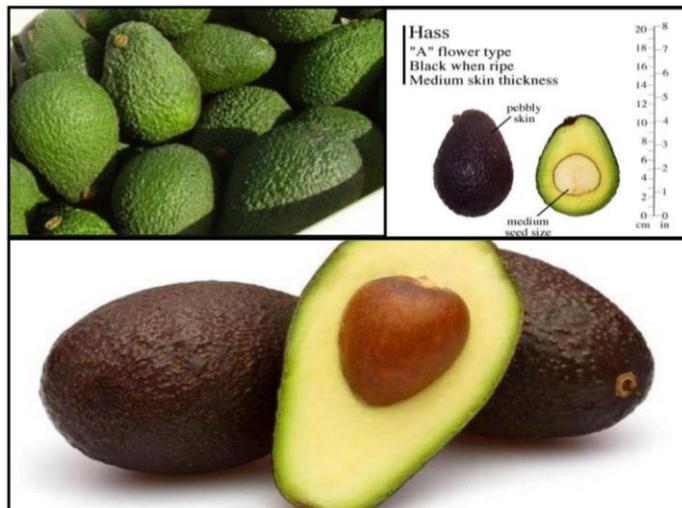


FIGURA 2. Palta Variedad Hass

FUENTE: Romero C. (2015)

2.1.3. TAXONOMÍA

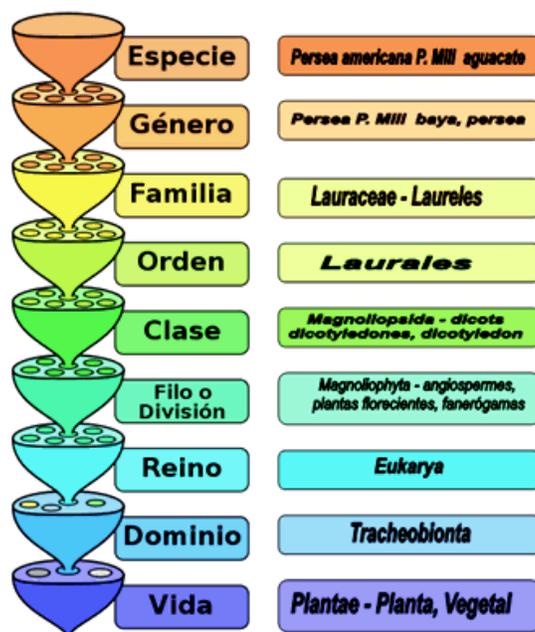


FIGURA 3. Taxonomía de *Persea americana* MIII

FUENTE: MINAGRI – DGPA (2016)

2.1.4. COMPOSICIÓN QUÍMICA PROXIMAL

Tabla 1.. Humedad natural y composición química proximal de la pulpa de aguacate (g%)

| Muestra | Humedad | | Proteína | Grasa | Cenizas | Fibra Cruda | Carbohidratos |
|-----------------|----------------|-------------|---------------|----------------|---------------|----------------|----------------|
| | Natural | Liofilizada | | | | | |
| Hass | 69.35± 1.32 | 2.95± 0.40 | 3.71± 0.31 | 60.07± 0.70 | 6.05± 0.60 | 24.55± 0.69 | 2.67± 0.95 |
| Utz | 80.65± 0.63 | 3.87± 0.69 | 1.71± 0.34 | 49.83± 4.55 | 5.25± 0.54 | 15.72± 2.13 | 28.62± 4.26 |
| Booth 8 | 83.87± 1.98 | 3.98± 0.57 | 5.45± 0.30 | 54.58± 0.53 | 4.99± 0.56 | 18.95± 1.27 | 12.06± 1.22 |
| Panchoy | 80.78± 0 | 3.89± 1.02 | 5.43± 0.21 | 59.21± 3.70 | 5.19± 0.39 | 17.76± 3.24 | 8.51± 1.11 |
| Shupte | 86.66± 0 | 2.63± 0.40 | 8.17± 0.58 | 45.50± 3.97 | 6.90± 0.35 | 12.76± 2.81 | 24.04± 0.87 |
| Promedio | 80.26 | 3.46 | 4.89 | 52.84 | 5.68 | 17.95 | 15.19 |

| | | | | | | | |
|-----------------|----------------|--------------|---------------|----------------|---------------|----------------|----------------|
| Criollos 1 | 84.39± 1.11 | 3.85± 0.82 | 3.74± 0.91 | 66.82± 0.12 | 6.87± 0.71 | 19.80± 0.09 | 3.84± 0.76 |
| Criollos 2 | 88.75± 1.24 | 2.51± 0.31 | 4.69± 0.53 | 62.76± 2.61 | 6.65± 0.26 | 17.47± 1.48 | 5.92± 1.96 |
| Criollos 3 | 82.60± 0.25 | 5.05± 1.41 | 8.23± 0.51 | 50.05± 0.83 | 6.87± 0.71 | 19.80± 1.03 | 10.00± 2.42 |
| Criollos 4 | 84.50± 2.89 | 2.72± 0.88 | 3.42± 0.31 | 56.60± 2.89 | 6.30± 0.48 | 21.29± 0.40 | 9.68± 2.08 |
| Criollos 5 | 88.01± 1.14 | 3.60± 1.43 | 3.86± 0.76 | 54.59± 2.36 | 7.68± 1.50 | 20.40± 2.42 | 9.88± 1.47 |
| Criollos 6 | 81.11± 2.72 | 2.98± 0.54 | 4.67± 1.42 | 55.28± 1.16 | 5.28± 0.78 | 19.60± 0.79 | 12.19± 3.51 |
| Promedio | 84.89 | 84.89 | 84.89 | 84.89 | 84.89 | 84.89 | 84.89 |

2.1.5. VALOR NUTRICIONAL

| Información Nutricional | |
|--------------------------------|--------------------------------|
| Contenido | por 100 g de porción |
| Carbohidratos total | 1.7 g |
| Fibra total | 3.3 g |
| Proteínas | 1.7 g |
| Vitamina A, B1, B2, B6 | 85µg, 0.11 mg, 0.2 mg, 0.45 mg |
| Niacina | 1.6 mg |
| Ácido pantoténico | 1 mg |
| Vitamina C, D, E, K | 14 MG, 10µg, 3 MG, 8µg. |
| Biotina | 10 MG |
| Ácido fólico | 32µ |
| Magnesio, Manganeso, Cobre | 41 mg, 2.3 mg, 0.35 mg |
| Sodio, Potasio, Calcio, Hierro | 4 mg, 463 mg, 10 mg |
| Fosforo | 40 mg |
| Azufre | 25 mg |



FIGURA 4. INFORMACION NUTRICIONAL DE PALTA HASS

FUENTE: HANALEISAC (2010)

2.1.6. PRODUCCION Y EXPORTACION DE LA PALTA HASS

La producción del tercer producto más importante en las agroexportaciones peruanas se concentra en las regiones de La Libertad, Lima, Ica y Junín.

La palta es el tercer producto más importante en la exportación de nuestro país por detrás del café y uva. De acuerdo a cifras del Ministerio de Agricultura y Riego (Minagri), en el 2017, el Perú exportó 247 mil toneladas de palta, principalmente variedad Hass (Figura 5), lo que representó un incremento de 27% a lo registrado en el 2016, y convirtió a nuestro país en el segundo productor mundial de palta. (Ministerio de Producción, 2018)

| MES | 2,018 | | | 2,017 | | |
|----------------------------|--------------------|--------------------|-------------|--------------------|--------------------|-------------|
| | FOB | KILOS | PREC. PROM | FOB | KILOS | PREC. PROM |
| ENERO | 5,655,515 | 2,791,733 | 2.03 | 974,466 | 511,298 | 1.91 |
| FEBRERO | 12,987,948 | 5,526,688 | 2.35 | 5,090,586 | 2,519,098 | 2.02 |
| MARZO | 31,404,860 | 12,546,265 | 2.50 | 17,187,204 | 7,825,572 | 2.20 |
| ABRIL | 75,804,024 | 31,727,657 | 2.39 | 71,982,002 | 34,036,292 | 2.11 |
| MAYO | 140,096,894 | 64,329,885 | 2.18 | 137,664,736 | 60,780,740 | 2.26 |
| JUNIO | - | - | | 131,194,851 | 55,483,730 | 2.36 |
| JULIO | | | | 130,955,927 | 52,617,173 | 2.49 |
| AGOSTO | | | | 76,989,530 | 29,814,251 | 2.58 |
| SEPTIEMBRE | | | | 4,986,808 | 2,035,851 | 2.45 |
| OCTUBRE | | | | 121,945 | 62,908 | 1.94 |
| NOVIEMBRE | | | | 523 | 159 | 3.29 |
| DICIEMBRE | | | | 751,220 | 405,803 | 1.85 |
| TOTALES | 265,949,241 | 116,922,228 | 2.27 | 577,899,798 | 246,092,875 | 2.35 |
| PROMEDIO MES | 53,189,848 | 23,384,446 | | 48,158,317 | 20,507,740 | |
| % CRECIMIENTO ANUAL | 10% | 14% | -3% | 29% | 27% | 2% |

FIGURA 5: Exportaciones de aguacate del año 2017 y 2018 (mayo)

FUENTE: SUNAT (2018)

De esta manera, las paltas vendieron \$ 580 millones, lo que representó un aumento de 46% con respecto al 2016. La producción nacional se concentró en los departamentos de La Libertad, Lima, Ica y Junín, que explican el 80% de las paltas (Ministerio de Producción, 2018).

Actualmente los destinos más importantes de la palta son: Holanda, Estados Unidos, España, Inglaterra, China y Chile, los cuales se muestran a continuación:

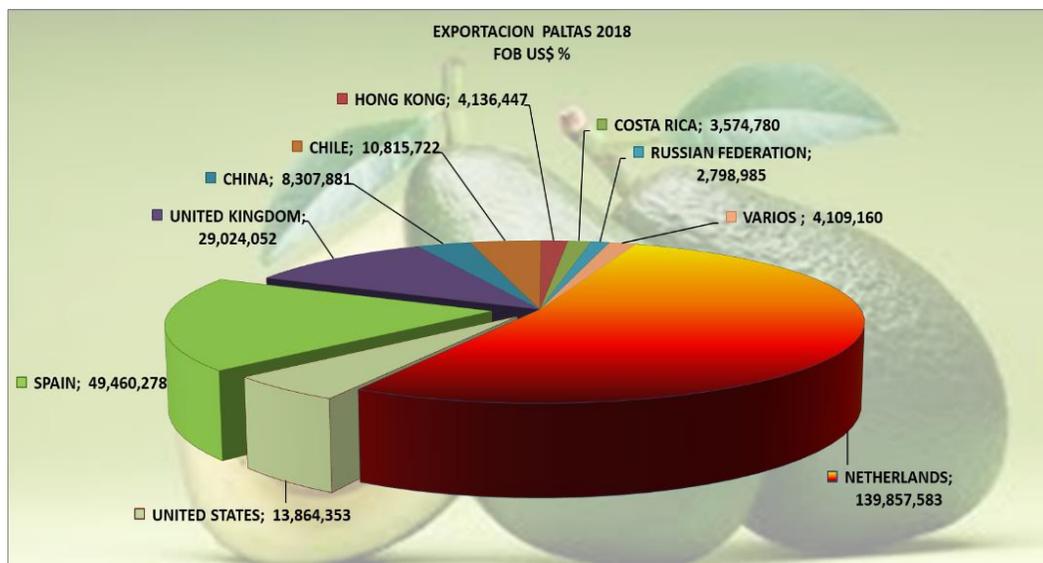


FIGURA 6: Aguacate – Paltas Perú Exportación 2018 Mayo

FUENTE: AGRODATA PERU

2.1.7. POSICIONAMIENTO EN EL MUNDO

El Perú es considerado como el segundo proveedor mundial de palta en volumen, siendo solo superado por México (Trade Map, 2016 citado por Ministerio de Produccion 2018). El Minagri destaca que este importante impulso en la colocación de palta en el mercado mundial responde a la intervención del Servicio Nacional de Sanidad Agraria (Senasa), que entre los años 2015 y 2016 pusieron en marcha protocolos fitosanitarios para el acceso de nuestra fruta al mercado de China, que involucra a 1,400 millones de consumidores. Gracias a la suscripción de este protocolo fitosanitario entre el Perú y China, nuestro país logró explicar en el 2016 el 14% de la cuota de palta importada por China. (Ministerio de Produccion, 2018)

2.1.8. CONTENIDO DE POLIFENOLES EN PALTA HASS

Tabla 2. Contenido de polifenoles totales y Actividad Antioxidante (DPPH, ABTS, FRAP and ROS) de cascara y semilla de palta variedad Hass y Fuerte

| Avocado agro-industrial by-products and standars | Total phenolic content (mg/g) | ANTIOXIDANR ACTIVITY | | |
|--|-------------------------------|----------------------|---------------|--------------------------|
| | | DPPH (umol/g) | ABTS (umol/g) | FRAP (umol Fe^{+2} /g) |
| Hass peel | 3 ± 7.2 | 310 ± 36.9 | 791.5± 35.9 | 1175.1±102.9 |
| Hass seed | 57±2.7 | 410.7± 35.8 | 645.8 ±17.9 | 656.9± 26.0 |
| Fuerte peel | 120.3± 7.8 | 420.5 ±23.2 | 1004.5 ±52.0 | 1881.4 ± 75.3 |
| Fuerte seed | 59.2 ± 6.9 | 464.9 ± 32.7 | 580.8± 31.0 | 931.7 ± 65.6 |

FUENTE: Tremocoldi M. et al. (2018)

2.2. METODOS DE EXTRACCION

La extracción es un proceso que se basa en la separación de uno o más componentes presentes en un producto, para ello se utiliza un solvente donde a ciertas condiciones se dará la transferencia del compuesto presente en una mezcla en fase solida o liquida con otros compuestos, hacia una liquida. (Naranjo J., 2016)

La extracción es uno de los pasos más importantes para obtener compuestos fenólicos en residuos agroindustriales, ya que influye directamente tanto en la calidad como en la cantidad de estos componentes. (Dueñas J., 2017). A pesar de ello, realmente no existen protocolos que estén estandarizados para la extracción de estos compuestos, es por ello la importancia de estudiarlos.

Existen diferentes métodos de extracción: convencionales y no convencionales. Los métodos convencionales que se utilizan para obtener compuestos fenólicos en matrices

vegetales, requieren grandes cantidades de solvente y un mayor tiempo de extracción, así como altas temperaturas (Dueñas J., 2017).

Estas altas temperaturas empleadas en los métodos convencionales producen una pérdida de estos compuestos fenólicos, debido a la ionización, hidrolisis y oxidación durante el proceso y, además al usar mayor solvente, la recuperación de estos compuestos podría ser más dificultosa por la naturaleza polar de estos. (Dueñas J., 2017).

En el caso de los métodos no convencionales, actualmente ya existen métodos que tienen la finalidad de hacer este proceso más eficiente, utilizando menor tiempo de extracción, menor cantidad de solvente, y además el de realizar una mejor recuperación de estos compuestos. (Fontana et al., 2013, citado por Dueñas J., 2017).

2.2.1. EXTRACCION CONVENCIONAL SOLIDO- LIQUIDO

Son las técnicas clásicas que se han utilizado para extraer compuestos provenientes de matrices vegetales, esto mediante un disolvente, también llamada extracción solido-liquido, en donde además se aplica calor y agitación. Algunos de los métodos más utilizadas en vegetales son Soxhlet, maceración, percolación y destilación, las cuales son muy comunes en la obtención de compuestos fenólicos presentes en residuos (Viganó J. & Martínez J., 2015, citado por Naranjo J., 2016)

La extracción convencional se caracteriza por utilizar grandes tiempos de extracción, así como grandes volúmenes de solventes

a) Extracción por maceración

Se basa en el contacto que se da entre la droga y el menstuo, en donde el menstuo actúa como un disolvente sobre la droga circulando en todas direcciones y sentidos, por consiguiente, se disuelven todos los principios activos presentes hasta lograr el equilibrio

de la concentración con la de del contenido celular. Este proceso se realiza sin presencia de luz, debido a posibles reacciones. (Soto, 2014, citado por Torres A., 2018).

b) Extracción por Soxhlet

Se utiliza generalmente para la extracción de compuestos lipídicos. Las ventajas de este método es que la técnica no depende de la matriz, además no necesita un monitoreo constante, y hasta existen equipos automáticos. Tiene como desventajas que para la extracción se necesita mucho tiempo, gran volumen de solvente y además después se debe realizar una concentración (Piñeiro, 2005, citado por Torres A., 2018).

c) Extracción por percolación

Este método se basa en que el menstruo atraviesa la droga siempre en un único sentido, de esta forma nunca se alcanza un equilibrio entre el solvente dentro y fuera del marco, entonces la droga al ser bañada cede progresivamente todos sus componentes al menstruo (Soto, 2014, citado por Torres A., 2018).

d) Extracción por decocción

Método que consiste en que la droga y menstruo son sometidas a temperatura de ebullición del agua por un tiempo de entre 15 a 30 minutos (Soto, 2014, citado por Torres A., 2018).

2.2.2. EXTRACCIÓN NO CONVENCIONAL

Estos nuevos métodos de extracción no convencionales son técnicas que se han desarrollado con la finalidad de facilitar la extracción de compuestos de alta calidad, y como se utiliza menos cantidad de solvente, esto origina menos residuos siendo así amigables con el medio ambiente (Viganó J. & Martínez J., 2015, citado por Naranjo J., 2016)

Entre estos métodos se encuentran: extracción asistida por ultrasonido, tecnología de microondas, por fluidos supercríticos, extracción turbo y eléctrica.

Estos nuevos métodos de extracción no convencionales son técnicas que se han desarrollado con la finalidad de facilitar la extracción de compuestos de alta calidad, y como se utiliza menos cantidad de solvente, esto origina menos residuos siendo así amigables con el medio ambiente (Viganó J. & Martínez J., 2015, citado por Naranjo J., 2016)

a) Extracción con fluidos supercríticos (SFE):

El fluido que generalmente se utiliza para la extracción es el Dióxido de Carbono (CO_2), ya que posee un alto poder de solubilización, permitiendo así una mejor transferencia de los compuestos presentes en una matriz vegetal. Además, la ventaja de usarlo es que es de fácil accesibilidad, bajo costo y alta pureza.

Sin embargo, la SFE es un método cuya implementación y montaje de equipo representa un alto costo de inversión. (Viganó & Martínez, 2015, citado por Naranjo J., 2016)

b) Extracción con líquidos a alta presión (PLE):

Este método emplea alta presión (0.1 -20MPa) y algún solvente como metanol, hexano, etanol, éter, entre otros, para extraer compuestos presentes en una matriz vegetal. La ventaja es que al colocar a altas presiones los solventes, estos se mantienen en estado líquido al someterlo a temperaturas mayores a su punto de ebullición. (Viganó y Martínez, 2015, citado por Naranjo J., 2016).

c) Extracción por microondas:

La extracción por microondas tiene como ventaja que además de ser rápida, utiliza pequeños volúmenes de solventes si lo comparamos con otros métodos. Además también

se puede controlar parámetros como tiempo, energía y temperatura en el proceso. (Piñeiro, 2005, citado por Torres A., 2018).

d) Extracción asistida por ultrasonido (EAU)

El método de extracción de compuestos asistida por ultrasonido es una de las más recientes tecnologías. Este método se caracteriza por su gran efectividad en poco tiempo, fácil operatividad y consumo de energía. (Khan *et al.*, 2010, citado por Quiroz A., 2016).

Se basa en el empleo de ondas sonoras mayores a 20 kHz, las ondas ultrasónicas producen una vibración se propaga en el medio, la cual transporta energía mecánica en forma de rápidas variaciones de presión. (Dueñas J., 2017)

Las ondas ultrasónicas abarcan distintos parámetros como (Tippens & Hernández 2007, citado por Medina N., 2017):

- Longitud: Es la distancia que existe entre dos puntos de compresión o de rarefacción.
- Amplitud: Es la altura máxima que alcanza una onda.
- Frecuencia: Es la relación entre el número de ciclos de onda por unidad de tiempo; en Hz.
- Velocidad: Es el producto de la frecuencia por la longitud de onda; en m/s.
- Potencia: Es el cociente entre la energía transportada y el tiempo usado; en W
- Intensidad: Relación entre una unidad de potencia en una unidad de área; en W/cm^2 .

El ultrasonido se da con la propagación de ondas mecánicas conformada por un conjunto de ciclos. Un ciclo se define como la sucesión de compresiones y rarefacciones, es decir de altas y bajas presión respectivamente, formándose en consecuencia las burbujas. (Shirsath et al. 2012, citado por Medina N., 2017)

El ultrasonido se caracteriza porque provoca cambios de temperatura y presión dentro de esta burbuja, hasta que ésta alcanza tamaños inestables críticos, produciéndose así una

implosión. El proceso de compresión, rarefacción y colapso de burbujas, es llamada cavitación. (Larrea J., 2012; Carciochi R., 2014, citado por Dueñas J, 2017).

La EAU produce efectos como la de una mayor penetración del solvente en la matriz vegetal aumentando así su capilaridad, ya que mejora el ingreso del solvente en el sólido, y provocando entonces una mejor transferencia de masa. Además, se sabe que esto se produce por el colapso de las burbujas como consecuencia de la cavitación, la cual genera una ruptura de las paredes del tejido vegetal. (Da Porto *et al.*, 2013, citado por Quiroz A., 2016).

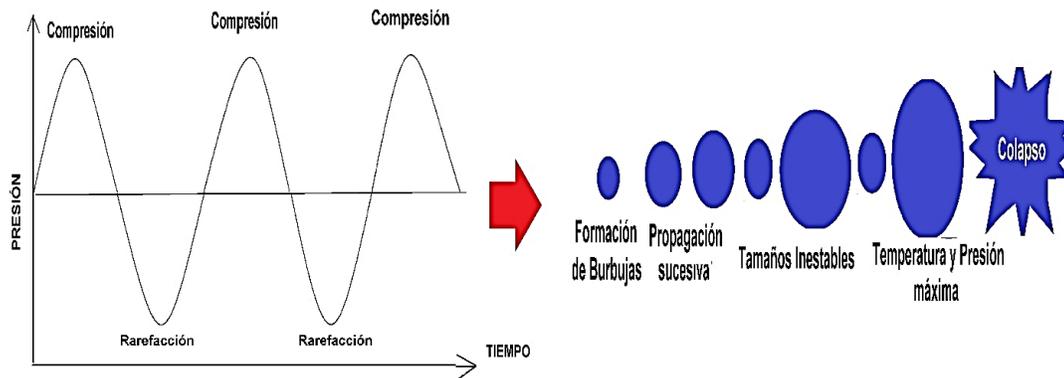


Figura 7. Principio de cavitación acústica

FUENTE: Medina-Torres et al. 2017, citado por Medina N. (2017)

Para realizar la EAU, se identifican varios mecanismos, como la *fragmentación*, que son colisiones entre partículas y ondas de ultrasonido, de esta manera se reduce el tamaño de la partícula, y se mejora la transferencia de masa. Otro mecanismo es la *erosión*, se da con la implosión de las burbujas sobre la matriz facilitando así el acceso del disolvente. Además, efectos como la sonocapilaridad mejoran la penetración del solvente a través de los canales producto de la implosión de las burbujas, y también la sonoporación que mejora la permeabilidad de la membrana de la célula. Por último, el cizallamiento

ocasiona el colapso de las burbujas en el fluido debido al fenómeno de oscilación. (figura 8) (Chemat et al. 2017, citado por Medina N., 2017).

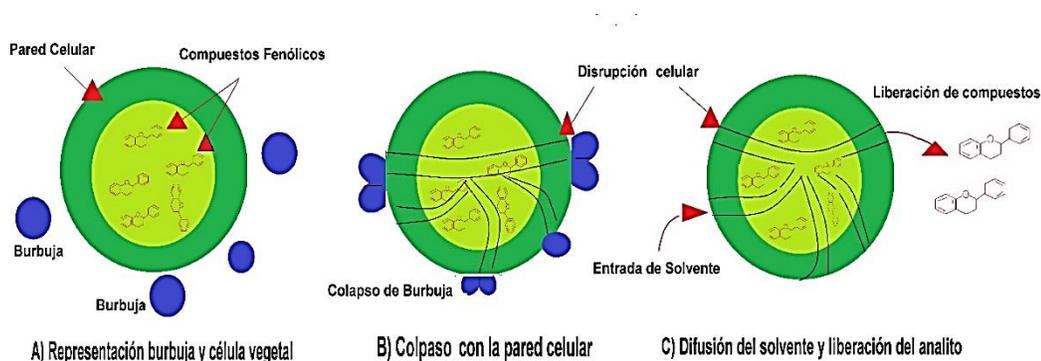


Figura 8. Representación gráfica del fenómeno de cavitación, colapso y liberación del material vegetal.

FUENTE: Medina- Torres et al. 2017, citado por Medina N. (2017)

2.2.3. PARÁMETROS QUE AFECTAN EL PROCESO DE EAU:

Para obtener una mayor extracción de compuestos en una matriz usando ondas ultrasónicas se debe optimizar los parámetros que influyen en la generación de ondas, es decir factores como frecuencia, tiempo de sonificación, concentración de solvente, temperatura, potencia, distribución de ondas tamaño de partícula, etc. (Khan *et al.*, 2010, Quiroz A.,2016).

a) Tiempo de Extracción:

La cavitación que se produce en la EAU es importante debido a que intensifica la transferencia de masa e interacción entre el soluto y solvente. A mayor tiempo de extracción existe una mayor eficiencia de la extracción debido a un mayor tiempo de relación de la matriz con el solvente. (Cheng X., et al., 2015, Dueñas J.,2017). Pero se debe tener en cuenta que la sonificación puede alterar los compuestos que posee la muestra, de acuerdo a la energía del ultrasonido o estabilidad de los compuestos. (Izquierdo A., 2011, citado por Dueñas J.,2017)

b) Temperatura:

La EAU es recomendable para extraer compuestos termolábiles, debido al uso de bajas temperaturas, ya que a altas temperaturas puede producir alteraciones en la muestra. Además, es importante controlar la temperatura, ya que el equipo de ultrasonido genera calor. (Izquierdo A., 2011, citado por Dueñas J.,2017)

c) Disolvente:

La tensión superficial, viscosidad y la presión de vapor del medio influyen en la intensidad de la cavitación

Aquellos que poseen pocas burbujas de cavitación son aquellos solventes que tienen baja presión de vapor

En cambio, aquellos solventes que tienen alta presión de vapor poseen más burbujas, sin embargo, colapsan con menor intensidad debido a la relación presión interna-externa.

(Djilani A., 2006, citado por Dueñas J.,2017)

d) Tamaño de Partícula

La muestra debe poseer un tamaño de partícula pequeña para poder mejorar la transferencia de masa, ya que la penetración del líquido a la matriz se hace más fácil.

(Takeuchi et al., 2009, citado por Quiroz A., 2016).

2.3. COMPUESTOS FENOLICOS

Los polifenoles son metabolitos secundarios con una alta gama de estructuras y funciones, donde el anillo aromático de su estructura se encuentra unido a uno o varios grupos hidroxilos. la variación de las moléculas de su estructura va desde una simple a un polímero complejo de amplia masa molecular .Los polifenoles se clasifican en dos grupos:

donde los ácidos fenólicos, fenilpropanoides, flavonoides y quinonas están en el primer grupo, mientras que los taninos condensados, ligninas y ácidos hidroxicinámicos se hallan en el segundo grupo. (Haminiuk et al . , 2012 , citado por Quiroz N., 2016).

En los alimentos frescos y procesados de origen vegetales, los compuestos fenólicos están relacionados con la calidad sensorial como sabor, color y valor nutricional, así como también actúan como antioxidantes naturales (Porras y López, 2009; Viganó y Martínez, 2015 citado por Naranjo I., 2016)

2.3.1. CLASIFICACION DE COMPUESTOS FENOLICOS

Los compuestos fenólicos se clasifican en clases y subclase que son determinados por la cantidad de sus anillos fenólicos tales como flavonoides, ácidos fenólicos estilbenos y lignanos (Ignacio y col., 2011 citado por Bass .Q, 2014)

Estos compuestos se hallan desde moléculas simples de bajo peso molecular hasta polímeros de múltiples anillos aromáticos, siendo uno de ellos los taninos.

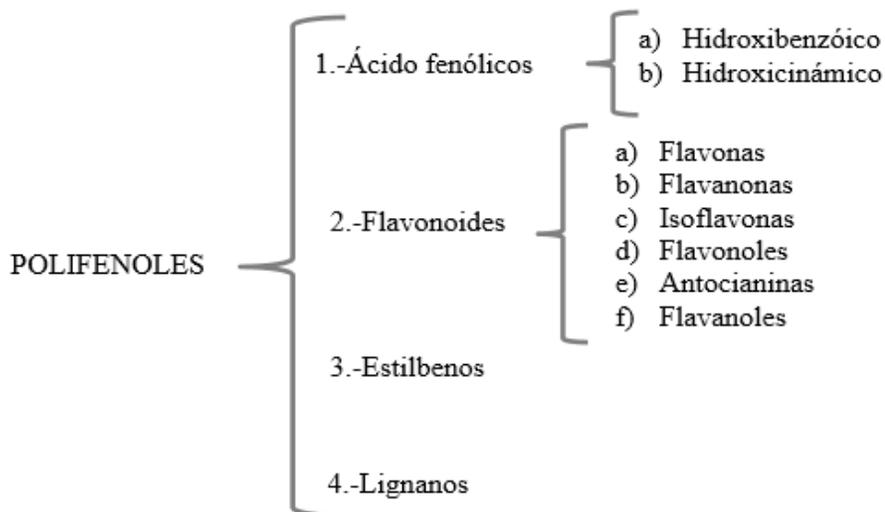


Figura 9. Clasificación de los compuestos polifenólicos (D' Archivio, M. y col., 2007 citado por Bass .Q, 2014)

FUENTE: Crozier A., Jaganath IB., and Clifford MN., 2009 citado por Moreno C., 2017

- **Ácidos fenólicos:** están unidos en forma Ester, éter o enlace acetal o también se encuentran libres en las plantas, dentro de ellos tenemos a los ácido hidroxibenzóico y ácido hidroxicinámicos l (Ignat y col., 2011 citado por Bass .Q, 2014).
- **Flavonoides:** son los encargados del color rojo azul de la frutas, vinos y verduras, se encuentran en las hojas, semillas, corteza, flores y fruto de las plantas, existen más de 4000. (Medić-Šarić. M. y col., 2004 citado Bass .Q, 2014). Estos son flavonas, flavanonas, isoflavonas, antocianidinas y flavanoles (Martinez -Flores, S. y col., 2002 citado por Bass .Q, 2014).
- **Estilbenos:** se encuentra en la uva, zumo de uva y vino, tienen propiedades biológicas tal como actividad antioxidante y la actividad antimicrobiana (Arraki, K. y col., 2013 citado por Bass .Q, 2014).
- **Los lignanos:** estos metabolitos secundarios reducen los efectos del estrógeno al desplazarlos de las células, se encuentran en una gran variedad de plantas que incluyen semillas de lino, calabaza, ajonjolí, centeno, y en algunas bayas (Collado, J. 2011 citados por Bass .Q, 2014).

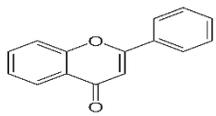
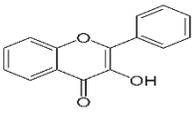
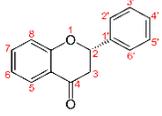
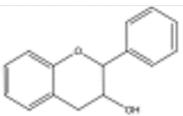
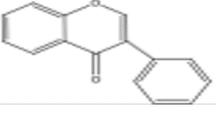
También se pueden clasificar de acuerdo a los solventes que se utilicen, ya que la extracción no realiza por completo. estos pueden ser polifenoles extraíbles que son solubles en solventes acuoso-orgánicos y polifenoles no extraíbles, que son retenidos durante la extracción (Arranz, 2010 citado por Huaman M., 2014).

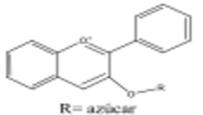
2.3.2. CLASIFICACION DE COMPUESTOS FENOLICOS EN ALIMENTOS

En los alimentos vegetales se conoce más de 8000 polifenoles distintos, siendo los más importantes los flavonoides, ácidos y alcoholes fenólicos, estilbenos y lignanos. Los factores tales como la temperatura, luz, respuesta a patógenos, procesamiento, maduración en el momento de la cosecha son causantes de afectar la composición de los compuestos fenólicos. (Granado, 2010 citado por Huaman M., 2014).

Algunos alimentos que tienen un alto contenido de compuestos fenólicos Son la cebolla, el té, el vino tinto, el cacao, el aceite de oliva virgen, etc, actuando como colorantes , antioxidantes y también con respecto al sabor, influenciando así en su calidad, aceptabilidad y estabilidad.(Gimeno,2004 citado por Huaman M., 2014) .Unos de las propiedades organolépticas principal es el color, antocianidinas, son encargdas de los tonos rojos, azules y violáceos .

Tabla 3 Estructuras de principales flavonoides presentes en alimentos

| Clase | Estructura | Ejemplos | Existencia en alimentos |
|---|---|--|---|
| Flavonas |  | Apigegina Luteolina | Apio Vino blanco |
| Flavonoles |  | Quercetina Miricetina Kaempferol Rutina | Cebolla Cerezas Manzanas |
| Flavanona |  | Naringenina Hesperidina Eriodictiol | Jugo de naranja y limón |
| Flavanoles, Proantocianidinas y Taninos |  | Catequina Epicatequina Epigallocatequina Procianidina B1, Trímero C1 | Cocoa y Chocolate, Vino, te, Manzanas. |
| Isoflavonoides |  | Genisteina Daidzein Glycitein | Legumbres: soya |

| | | | |
|--------------|---|---|--|
| Antocianinas |  | Malviin, Cianidin Malvidin- 3-glucosido | Bayas (uvas, arándanos, Cerezas) |
|--------------|---|---|--|

Fuente: Valls, et al. 2009 citado por Rosero J. 2017

2.3.3. COMPUESTOS FENOLICOS EN RESIDUOS DE PALTA HASS

Los residuos de palta tienen compuestos muy importantes en la alimentación, dentro de ellos tenemos los oligómeros de procianidinas, catequina, epicatequina y ácido 5-Ocafeoilquínico (Hirasawa et al., 2008; Wang et al., 2010; Kosińska et al., 2012 citado por Salmerón, 2014), que se encuentran en la cascara, esto es debido su estructura está compuesta por dos grupos funcionales, también forman complejos con proteínas y polisacáridos asociándose con los componentes de matriz vegetal. (Sánchez-Alonso et al., 2007; Vitaglione et al., 2008; Goñi et al., 2009 citado por Salmeron M., 2014)

Catequina, epicatequina, procianidina B 1, y trans-5- O- cafeoil-D-quínico ácido están presentes en las semillas, siendo el más resaltante y con un alto contenido la epicatequina. (Tremocoldi M. et al, 2018)

2.3.4. EXTRACCION DE COMPUESTOS FENOLICOS

Para separar los compuestos polifenólicos del tejido vegetal, se realiza la extracción, dependiendo de su naturaleza, composición. Las condiciones tales como la naturaleza química, método de extracción, presencia de interferencia influyen en la extracción. (Takeuchi et al., 2009 citado por Quiros N., 2016).

Para realizar la extracción se debe tener en cuenta la naturaleza química, grado de polimerización de los compuestos fenólicos, así como también el tamaño de partícula de la muestra y las sustancias que ocasionen una mala interferencia, tales como la grasa y el colorante, si existe presencia de estas sustancias se debe eliminar. Para obtener un alto contenido de compuestos polifenólicos se debe tener en cuenta los solventes acuosos- orgánicos, así como también el tiempo de extracción, si este es muy largo ocurre oxidaciones. (Arranz, 2010 citado Huaman M., 2014)

2.3.5. ANTIOXIDANTES

Los antioxidantes intervienen en la oxidación de los lípidos, ácidos nucleicos y otras moléculas, retrasándolos, es decir inhibiendo las reacciones oxidativas (Wang, 2006 citado por Quiroz N., 2016) son sustancias que defienden al organismo de radicales libres, protegiendo de las especies reactivas de oxígeno (EROS), estrés oxidativo, mediante mecanismos (redox o donación de electrones). (Venkatachalam, et al. 2014).

Los antioxidantes se pueden clasificar en primarios y secundarios: los primarios, mediante la donación de hidrógeno y generación de radicales más estables, la cadena de la oxidación se rompe, mientras que los secundarios, mediante la quelación de metales, la regeneración de antioxidantes primarios, la descomposición de hidroperóxidos y la eliminación de oxígeno, retardan la oxidación con otros mecanismos. (Brito, 1999 citado por Choquecondo R., 2019)

También se clasifican en enzimáticos y no enzimáticos. Los enzimáticos, son producidos en los sistemas vivos con superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT) y glutatión peroxidasa; en los no enzimáticos, se encuentran en los alimentos, polifenoles, carotenoides, vitaminas y minerales (Rajendra, 2017) En los alimentos, se encuentran

antioxidantes tales como los tocoferoles o el ácido ascórbico, estos se van perdiendo mediante los procesos o almacenamientos. (Brito, 1999 citado por Choquecondo R.,2019).para lograr un efecto satisfactorio y pueda prevenir o retrasar la oxidaciones de los componentes se debe adicionar varios a la vez, de modo que evite la formación de radicales libres, donde irrumpirá la fase de propagación ,impidiendo la propagación. (Ministerio de Educación y Ciencia de España, 2004, p.123 citado por Naranjo I., 2016).

CAPÍTULO III: MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. MATERIA PRIMA

Para realizar este trabajo de investigación se utilizará palta variedad Hass, procedente del Mercado Local La Perla, ubicado en el distrito de Chimbote. La palta que se utilizó fue de un mismo estadio 3 (óptimo para exportación), cosechados en un mismo terreno y bajo las mismas condiciones.



Figura 1 : Aguacate – Paltas Perú Exportación 2018 Mayo

FUENTE: AGRODATA PERU

3.2. REACTIVOS

- Folin Ciocalteu, Sigma Aldrich
- Ácido gálico, Sigma Aldrich, pureza $\geq 98.0\%$.
- Etanol, J.T.Baker, pureza $\geq 99\%$.
- Carbonato de sodio, Na_2CO_3 , E. Merck
- Metanol grado HPLC
- Agua Destilada.
- Éter de Petróleo

- Ácido Sulfúrico
- Hidróxido de Potasio
- Hidroxido de Sodio

3.3. EQUIPOS Y MATERIALES

3.3.1. EQUIPOS

- Secador de Bandejas, Mod. SBT-10X10, Serie JP 001 01 13. Ubicado en el Laboratorio de Operaciones Unitarias del Instituto de Investigación de la Universidad Nacional del Santa.
- Módulo de Molienda y Tamizado, Mod MDMT-60XL, Serie JP 001 0112. Ubicado en el Laboratorio de Operaciones Unitarias del Instituto de Investigación de la Universidad Nacional del Santa.
- Ultrasonic Cleaner Cole- Parmer, Mod. 08892-26, Serie QPC010698219F. Ubicado en el Laboratorio de Investigación y Desarrollo de la Escuela de Agroindustria.
- Centrifuga Sigma, Mod 2-16, Serie 100978. Ubicado en el Laboratorio de Investigación y Desarrollo de la Escuela de Agroindustria.
- Espectrofotómetro UV- Visible Jasco, Mod V-670, Serie A019961154. Ubicado en el Laboratorio de Investigación y Desarrollo de la Escuela de Agroindustria.

3.3.2. MATERIALES COMPLEMENTARIOS

- Pipetas (5,10ml)
- Micropipetas (0.5-10 μ l, 100-1000 μ l)
- Fiolas (10,50,100, 250ml)

- Viales de vidrio con septo de 1.5 mL.
- Placas Petri.
- Matraz Erlenmeyer (50,100 ml)
- Probeta (20ml)
- Vasos precipitados
- Tubos de ensayo.
- Rejilla.
- Crisoles.
- Pinzas metálicas.
- Desecador.
- Papel filtro

3.4. ANÁLISIS

3.4.1. ANÁLISIS QUÍMICO PROXIMAL

- **DETERMINACIÓN DE HUMEDAD:** La determinación del contenido de humedad se determinó por efecto de la Gravimetría en Estufa, según el Método AOAC, 930.15 (1990).
- **DETERMINACIÓN DE CENIZAS:** La determinación del contenido de cenizas se realizó utilizando la incineración en mufla, utilizando el Método de la AOAC 7009.14 (1984).
- **DETERMINACIÓN DE GRASA:** El porcentaje de grasa fue determinado por el Método Soxhelt, según la AOAC 930,19 (1990).
- **DETERMINACIÓN DE PROTEÍNA:** El contenido de Proteínas se determinó por el Método Kjeldahl, recomendado por la AOAC 930.19 (1990).

- **DETERMINACIÓN DE FIBRA:** La determinación del contenido de Fibra Cruda se hizo según el Método NMX-F-090-1978.
- **DETERMINACIÓN DE CARBOHIDRATOS:** El porcentaje de carbohidratos se dedujo a partir del contenido de humedad, ceniza, proteína, grasa y fibra.

3.4.2. DETERMINACIÓN DE POLIFENOLES TOTALES

La determinación del contenido de Polifenoles totales se realizó de acuerdo al método Colorimétrico utilizando el ensayo de Folin Ciocalteu (Kurabachew S.et al, 2015). Las medidas se llevaron a cabo a 726 nm y la curva de calibración se realizó con soluciones estándar de ácido gálico, todos los análisis se realizaron por triplicado. El rendimiento de TP se expresó en miligramos de ácido gálico equivalente por gramo de sustrato seco (mgGAE/g).

3.4.3. DETERMINACION DE CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

La determinación de la Capacidad Antioxidante se realizó mediante el método DPPH.

3.5. METODOLOGÍA

3.5.1. PROCESO DE OBTENCIÓN DE HARINA A BASE DE RESIDUOS DE PALTA HASS

- RECEPCION DE MATERIA PRIMA:** Se utilizaron 20 kg de Palta Hass, la cual fue de un solo estadio de madurez , y fueron comprados en el Mercado “La Perla”, provenientes de un mismo terreno y bajo las mismas condiciones
- LAVADO Y DESINFECCION:** Se realizó el lavado de las paltas con Hipoclorito de Sodio a 100ppm para eliminar materia extraña o bacterias presentes en la superficie

- c. **DESPULPADO:** Se trabajó con los residuos de la palta Hass (cascara y semilla), con ayuda de un cuchillo domestico se cortó, y luego se separó la pulpa de palta de su cascara y semilla. Se realizó el Analisis Quimico Proximal por separado de la cascara y semilla de Palta.
- d. **CORTADO:** Se cortaron las semillas y cascaras de las paltas en trozos delgados y pequeños, con un tamaño uniforme de aproximadamente 2cm² y un mm de espesor como maximo.
- e. **SECADO POR BANDEJAS:** Las cascaras y semillas cortadas se colocaron en el Secador de Bandejas para ser sometidos a una temperatura de 40°C por 24 horas.
- f. **MOLIENDA Y TAMIZADO:** La cascaras y semillas ya secas, fueron molidas y tamizadas en el Modulo de Molienda y tamizado. El tamizado se realizó mediante un tamiz de 1 mm de diametro.
- g. **ENVASADO:** La muestra ya pulverizada fue envasada en frascos ambar de vidrio cerradas hermeticamente y se agregó nitrógeno gaseoso para eliminar el oxigeno.
- h. **ALMACENAMIENTO:** Las muestras fueron colocadas en oscuridad en un desecador para su conservación y posteriores analisis.

3.5.2.PROCESO DE DETERMINACION DE COMPUESTOS FENOLICOS EN EXTRACTOS DE RESIDUOS DE PALTA HASS

- a. **PREPARACIÓN DE MUESTRA (muestra-solvente):** Para la extraccion de compuestos fenólicos se utilizó el solvente binario: etanol-agua. Se realizo una doble extraccion por lo que se empleó la relación de muestra-solvente 1:20.

Para ello se pesó 1 g de muestra molida en tubos de ensayo con tapa y se le agregó primero 10 ml de solvente, y luego a la misma muestra (precipitado) se le agregó otros 10 ml de solvente.

b. EXTRACCIÓN ASISTIDA POR ULTRASONIDO:

Para realizar la extracción asistida por ultrasonido, se realizaron pruebas preliminares para seleccionar la concentración de solvente, temperatura y tiempo adecuadas. Los experimentos fueron hechos a 100W de potencia y 42 kHz de frecuencia.

c. CENTRIFUGACIÓN:

Las muestras se centrifugaron por medio de la Centrífuga Sigma durante 4000 rpm por 10 minutos. Se le denomina “extracto” al sobrenadante obtenido. Por cada extracción se realiza una centrifugación.

d. LECTURA DE POLIFENOLES TOTALES:

La concentración de polifenoles totales se determinó por el método colorimétrico de Folin-Ciocalteu. Para ello se preparon las siguientes soluciones:

d.1. Preparación de la solución stock de Acido Gálico: Se Pesó 25mg (0.025g) de ácido gálico, se agregó en una fiola de 100ml y se aforó con agua destilada. De la solución se extrajo 2ml y se le agregó a una fiola de 10 ml, se aforó con agua destilada y se mezcló.

d.2. Preparación de la solución Folin Dennis: En una fiola de 10 ml, se agregó 1.25 ml de reactivo Folin y se aforó con agua destilada

d.3. Preparación de la solución de Carbonato de Sodio: Se agregó 0.750g de Na_2CO_3 a una fiola de 10 ml y se aforó con agua destilada. Se calentó a temperatura entre 70-80°C, hasta diluir.

Se tomaron 900 μL del extracto de muestra diluida, se agregó 2400 μL de agua destilada y agitó. Luego se añadió 150 μL de Ca_2CO_3 y 300 μL de Folin y agitó, se dejó en reposo por 15 minutos y finalmente se procedió a medir la absorbancia a 726nm en el Espectrofotometro, empleando una cubeta de cuarzo de 1 cm de paso óptico frente a un blanco preparado a las mismas condiciones.

d.4. Preparación de la Curva Estándar

A cada uno de los siete viales se añadió la Solución de Acido Gálico, el agua destilada, luego la solución de Carbonato de Sodio (Na_2CO_3) y se agitó. Luego se agregó la solución Folin, agitar y se dejó reposar por 5 minutos. Finalmente se leyó en el espectrofotómetro a 726 nm.

Tabla 4. Proporciones de la curva patron

| | Ac. Galico | Folín | Na_2CO_3 | Agua destilada | Total |
|--------|---------------------------------|---------------------------------|--|---------------------------------|---------------------------------|
| | μL | μL | μL | μL | μL |
| 1 | 100 | 100 | 50 | 2400 | 2650 |
| 2 | 200 | 100 | 50 | 2300 | 2650 |
| 3 | 400 | 100 | 50 | 2100 | 2650 |
| 4 | 600 | 100 | 50 | 1900 | 2650 |
| 5 | 800 | 100 | 50 | 1700 | 2650 |
| 6 | 1000 | 100 | 50 | 1500 | 2650 |
| 7 | 1200 | 100 | 50 | 1300 | 2650 |
| blanco | 0 | - | 50 | 2600 | 2650 |

La Tabla 4 indica las proporciones de μL a agregar en los viales hasta llegar a un total de $2650 \mu\text{L}$.

Los datos obtenidos se sometieron a un análisis de regresión lineal, en donde se obtendrá la ecuación tipo $y = b + (m * C)$. Donde “b” correspondera a la intersección de la recta en el eje de ordenadas, “m” es la pendiente de la recta, “y” correspondera a la absorbancia a 726 nm y C correspondera a la concentración del ácido gálico mg/L .

- e. **CUANTIFICACION DE POLIFENOLES TOTALES:** Las absorbancias obtenidas de las muestras se sustituiran en la ecuación de la recta de calibrado de concentración (mg/L) vs absorbancia. Donde la absorbancia, sera el valor de la ordenada, “y” y al despejar “x” que corresponde a la concentración de ácido gálico del extracto, por lo tanto los polifenoles totales estarán expresados en mg ácido gálico/L .

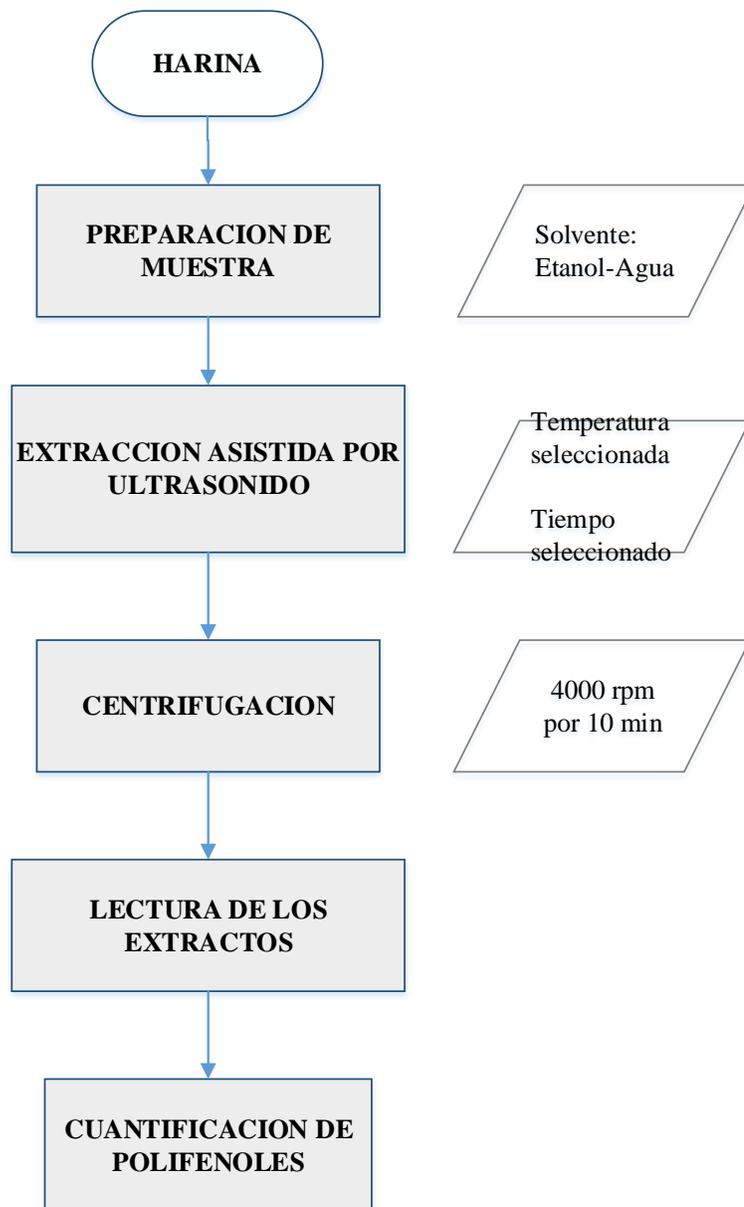


Figura 10. Proceso de Determinación De Compuestos Fenólicos en Extractos de Residuos de Palta Hass

3.5.3. PROCESO PARA LA OPTIMIZACION DE COMPUESTOS FENOLICOS TOTALES

Para la optimización de la extracción de compuestos fenólicos derivados de los residuos de la Palta Hass, primero se establecieron los parámetros de trabajo y para ello se realizaron pruebas preliminares en las cuales se utilizó el diseño experimental de un solo factor. Las pruebas se hicieron de las 3 variables independientes: concentración de solvente (%), temperatura y tiempo de sonificación dependiendo de estos la cantidad de polifenoles totales.

a. SELECCIÓN DE SOLVENTE:

Para poder seleccionar la mejor concentración de Etanol se realizaron pruebas en mezclas etanol-agua, donde el etanol fue variando gradualmente desde 0% a 90% de 10 en 10. Las condiciones de extracción fueron las descritas en la Tabla 5 y 6, para la Cascara y Semilla de palta Hass respectivamente, durante un tiempo total de 60 minutos. Se seleccionó el mejor porcentaje de etanol en función de que mezcla obtuvo mayor contenido de polifenoles mediante el método. La expresión de la concentración de polifenoles es mg GAE/g.

Tabla 5. Condiciones de Concentración de Solvente utilizadas para la extracción de compuestos fenólicos de Cascara de Palta Hass

| %Solvente binario | Temperatura(°C) | Tiempo total (minutos) |
|--------------------------|------------------------|-------------------------------|
| EtOH 0% | 60°C | 60 |
| EtOH 10% | 60°C | 60 |
| EtOH 20% | 60°C | 60 |
| EtOH 30% | 60°C | 60 |

| | | |
|----------|------|----|
| EtOH 40% | 60°C | 60 |
| EtOH 50% | 60°C | 60 |
| EtOH 60% | 60°C | 60 |
| EtOH 70% | 60°C | 60 |
| EtOH 80% | 60°C | 60 |
| EtOH 90% | 60°C | 60 |

Tabla 6. Condiciones de Concentración de Solvente utilizadas para la extracción de compuestos fenólicos de Semilla de Palta Hass

| %Solvente binario | Temperatura(°C) | Tiempo total (minutos) |
|--------------------------|------------------------|-------------------------------|
| EtOH 0% | 60°C | 60 |
| EtOH 10% | 60°C | 60 |
| EtOH 20% | 60°C | 60 |
| EtOH 30% | 60°C | 60 |
| EtOH 40% | 60°C | 60 |
| EtOH 50% | 60°C | 60 |
| EtOH 60% | 60°C | 60 |
| EtOH 70% | 60°C | 60 |
| EtOH 80% | 60°C | 60 |
| EtOH 90% | 60°C | 60 |

b. SELECCIÓN DE TEMPERATURA:

Ya establecida la concentración de etanol en función del contenido de polifenoles se procedió a seleccionar la temperatura y tiempo de extracción.

Otro parámetro de extracción es la Temperatura, para ello se realizaron pruebas con temperaturas entre 30°C Y 70°C, variando de 10 en 10. Ya seleccionados anteriormente la mejor concentración de etanol se utilizó este porcentaje y un tiempo total de 60 minutos.

Se seleccionó la mejor temperatura en función de la concentración de compuestos fenólicos totales mediante el método de Folin- Ciocalteu.

Tabla 7. Condiciones de Temperatura en la extracción de compuestos fenólicos de Cascara de Palta Hass

| %Solvente binario | Temperatura | Tiempo total (minutos) |
|--------------------------|--------------------|-------------------------------|
| EtOH 50% | 30 °C | 60 |
| EtOH 50% | 40 °C | 60 |
| EtOH 50% | 50 °C | 60 |
| EtOH 50% | 60 °C | 60 |
| EtOH 50% | 70 °C | 60 |

Tabla 8. Condiciones de Temperatura en la extracción de compuestos fenólicos de Semilla de Palta Hass

| %Solvente binario | Temperatura | Tiempo total (minutos) |
|--------------------------|--------------------|-------------------------------|
| EtOH 40% | 30 °C | 60 |
| EtOH 40% | 40 °C | 60 |
| EtOH 40% | 50 °C | 60 |
| EtOH 40% | 60 °C | 60 |
| EtOH 40% | 70 °C | 60 |

c. SELECCIÓN DE TIEMPO:

Ya establecidos los parámetros de concentración de etanol (50% en cascara y 40% en semilla) y temperatura (50°C en cascara y semilla), se evaluó el tiempo de sonificación que fue desde 10 a 50 minutos, al haberse realizado doble extracción se tomara como tiempo total 20, 40, 60, 80 y 100 minutos.

Tabla 9. Condiciones de Tiempo de extracción de compuestos fenólicos de Cascara de Palta Hass

| %Solvente binario | Temperatura | Tiempo total (minutos) |
|--------------------------|--------------------|-------------------------------|
| EtOH 50% | 50 °C | 20 |
| EtOH 50% | 50 °C | 40 |
| EtOH 50% | 50 °C | 60 |
| EtOH 50% | 50 °C | 80 |
| EtOH 50% | 50 °C | 100 |

Tabla 10. Condiciones de Tiempo de extracción de compuestos fenólicos de Semilla de Palta Hass

| %Solvente binario | Temperatura | Tiempo total (minutos) |
|--------------------------|--------------------|-------------------------------|
| EtOH 40% | 50 °C | 20 |
| EtOH 40% | 50 °C | 40 |
| EtOH 40% | 50 °C | 60 |
| EtOH 40% | 50 °C | 80 |
| EtOH 40% | 50 °C | 100 |

d. OPTIMIZACION DE LAS CONDICIONES DE EXTRACCION DE EXTRACCION DE COMPUESTOS FENOLICOS:

Se realizo por el Metodo de Superficies de Respuesta con el software Statgraphic Centurion XVI.II, por medio del cual nos mostrara el tratamiento con las condiciones optimas (concentracion de solvente, tiempo y temperatura) para obtener el mayor contenido de compuestos fenolicos tanto en la semilla y cascara de Palta Hass

La Metodología de Superficie de Respuesta (MSR), tiene la finalidad de diseñar un experimento que proporcione resultados razonables de la variable dependiente y obtener un modelo optimo que se ajuste a los datos obtenidos de este experimento. Entonces con el objetivo de ver cual es la influencia de mis parámetros seleccionados (concentración de solvente, tiempo y temperatura) en mi contenido de compuestos fenólicos se empleó el diseño factorial 2^3 con 3 puntos centrales.

El diseño codifico a mis variables experimentales como -1, 0 y +1. Para poder codificar mis valores, cada parámetro previamente ya seleccionado será el valor central “0”, el cual será a su vez el promedio entre el valor del máximo y mínimo.

El diseño estadístico se realizará tanto para la Cascara como Semilla de Palta Hass ya que tienen diferentes puntos centrales (Tabla 11 y 12)

Tabla 11. Variables del diseño experimental de la extracción asistida por ultrasonido de Cascara de Palta Hass

| Codificación | Variable Independiente | Niveles | | |
|---------------------|-------------------------------|----------------|----------|-----------|
| | | -1 | 0 | +1 |
| X1 | Concentración de solvente (%) | 40 | 50 | 60 |
| X2 | Temperatura | 40 | 50 | 60 |
| X3 | Tiempo | 40 | 60 | 80 |

Tabla 12. Variables del diseño experimental de la extracción asistida por ultrasonido de Semilla de Palta Hass

| Codificación | Variable Independiente | Niveles | | |
|---------------------|-------------------------------|----------------|----------|-----------|
| | | -1 | 0 | +1 |
| X1 | Concentración de solvente (%) | 30 | 40 | 50 |
| X2 | Temperatura | 40 | 50 | 60 |
| X3 | Tiempo | 40 | 60 | 80 |

Se muestran 30 experimentos por cada diseño experimental (Anexo 4). Las variables codificadas son en ambos casos X1: concentración de solvente, x2: temperatura y x3: tiempo en donde al realizar los experimentos los resultados obtenidos fueron expresados en función a los compuestos fenólicos totales (mgGAE/gmuestra)

Además, se utilizó el modelo de Superficies de Respuesta para finalmente determinar las condiciones óptimas de extracción

CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIONES

4.1. ANÁLISIS QUÍMICO PROXIMAL

En la Tabla 13 se presentan los resultados de la composición química proximal de los residuos de palta has. Se realizaron los análisis de: humedad, ceniza, proteína, fibra, grasas y fibra, en el Laboratorio de Composición de Alimento de la EAPIA y el Instituto de Investigación Tecnológico Agroindustrial de la Universidad Nacional del Santa

Tabla 13. Análisis Químico Proximal de los residuos de Palta Hass (Persea Americana) (g/100g)

| ANALISIS | CASCARA | SEMILLA |
|-----------------|----------------|----------------|
| HUMEDAD % | 5.7159±0.0788 | 8.6365±0.0284 |
| CENIZA % | 2.1464±0.0759 | 1.4233±0.0595B |
| GRASAS % | 17.2871±0.5562 | 1.6746±0.2234B |
| PROTEINAS % | 3.8868±0.098 | 1.9144±0.0212B |
| FIBRA % | 27.3928±0.4408 | 19.9416±0.2202 |
| CARBOHIDRATOS % | 43.5711±0.8897 | 66.4097±0.4342 |

De acuerdo al análisis químico proximal realizado en la semilla de palta se obtuvo una humedad de 8.6365±0.028 en base seca, dentro de sus macronutrientes se encuentra un alto contenido de carbohidratos con 66.4097±0.4342 g/100g, fibra con

19.9416±0.2202, proteína (1.9144±0.0212), grasa (1.6746±0.2234) y ceniza (1.4233±0.0595). Estos resultados coinciden con (Bresani R., 2009), quien también obtuvo valores similares.

En el análisis químico proximal realizado a la cáscara se obtuvo 5.7159±0.0788 de humedad y presento entre sus macronutrientes, un alto contenido en carbohidratos de 43.5711±0.8897, grasas (17.2871±0.5562), proteína (3.8868±0.098) y ceniza (2.1464±0.0759). Además, posee 27.3928±0.4408 de fibra cruda, encontrándose solo lignina en la cáscara. (Ceballos y Montoya, 2013 citado por Rengifo P. & Carhuapoma M., 2014). Los datos obtenidos son similares a los reportados por Aymacaña A. (2018), exceptuando el contenido de proteína. El contenido de proteína de la cascara resulta ser importante y podría ser utilizado como alimento balanceado (Aymacaña A., 2018)

Los residuos de la palta Hass tienen un potencial industrial importante ya que representa un importantes porcentajes respecto del peso bruto de la palta. La semilla y cascara de la palta se destacan por su alto contenido en carbohidratos, lo que puede ser utilizado para alimentación animal. (Bresani R., 2009). Otro potencial de aprovechamiento es el almidón que poseen estos residuos, los cuales son fácilmente extraíbles. La semilla por su parte se caracteriza por su alto contenido en taninos, el cual se evidencia al cambio de color a rojo que sufre al cortarse. (Bresani R., 2009). También se han realizado estudios de aprovechamiento de semilla, con la que se han realizado formulaciones de snacks a base de harina de maíz y semilla de palta. (Olae J. y col., 2012, citado por Rengifo P. & Carhuapoma M.,2014).

4.2. CALIBRACIÓN DEL MÉTODO

Se calibró el método para la determinación de compuestos fenólicos totales y para ello se utilizó el método de Follin Ciocalteu, a partir de valores de absorbancia de cada concentración de ácido gálico.

Los valores de absorbancia se midieron a 726nm de absorbancia, los cuales se muestran en la Tabla 14.

Tabla 14. Valores de la Curva de Calibrado

| N° | CONCENTRACION DE ACIDO GALICO (mg/L) | ABSORVANCIA (726nm) |
|----|--------------------------------------|---------------------|
| 1 | 2 | 0.0420508 |
| 2 | 4 | 0.0754142 |
| 3 | 12 | 0.240732 |
| 4 | 16 | 0.289322 |
| 5 | 20 | 0.373413 |

Se obtuvo la curva de Calibración para el método con los valores de la Tabla 14, y se realizó una regresión lineal simple de las dos variables, a partir de ello se obtuvo una función lineal entre la variable dependiente, valores de absorbancia, y la independiente, valores concentración de ácido gálico.

El coeficiente de determinación R^2 describe la relación que existe entre estas variables. La ecuación que relaciona las dos variables es: $y = 0.0184x + 0.006$, con un $R^2 = 0.9958$. Lo que se traduce en que la variable concentración de Ácido Gálico nos explica el 99.58% de la variable Absorbancia.

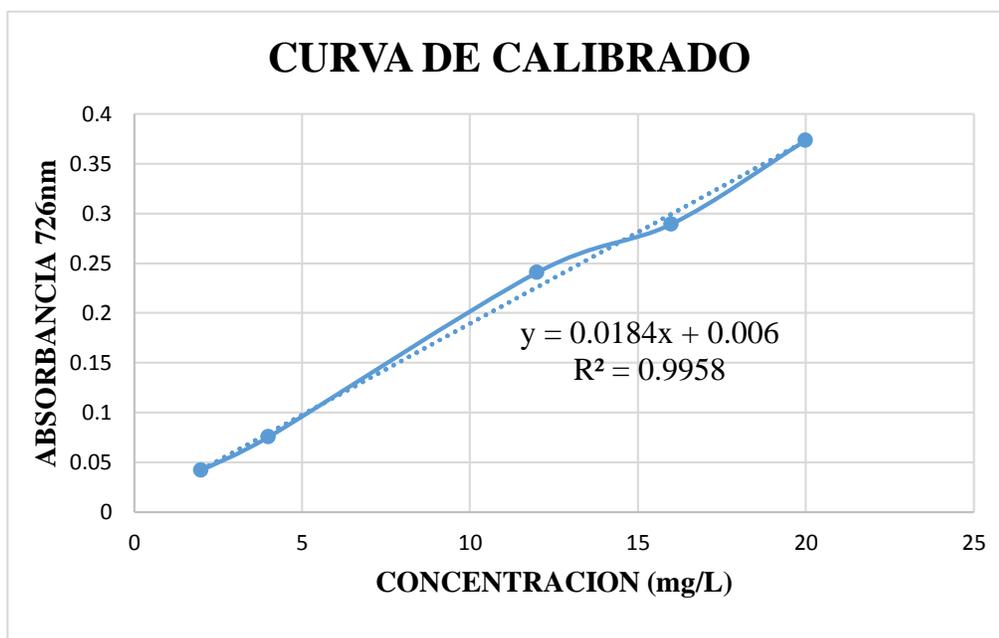


Figura 11. Curva de Calibrado de Acido Gálico

Los compuestos fenólicos totales se expresan de acuerdo a la Curva de Calibrado del método, cuyas unidades son mg de ácido gálico/L de extracto o mg GAE/L de extracto. En caso de los análisis se utilizó 1g de cascara o semilla de palta Hass en 20 mL de solvente, por lo tanto, la relación fue de 1:20; por lo que en cada 20 ml de extracto hay 1 gramo de muestra, por lo que por cada 0.02mg GAE/g muestra.

Además, se tomó en cuenta las diluciones que se hizo de los extractos, con agua destilada, con la finalidad de que se alinee dentro de la Curva de Calibrado.

4.3. EXTRACCIÓN ASISTIDA POR ULTRASONIDO DE CÁSCARA DE PALTA HASS

4.3.1. EFECTO DE LA CONCENTRACIÓN DE SOLVENTE EN LA EXTRACCIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS

Se realizó la extracción de compuestos fenólicos mediante la mezcla etanol-agua, cuyos valores de concentración se tomó desde 0% hasta 90% con intervalos de 10 en 10, además a temperatura de 50°C por 60 minutos.

Los resultados mostrados en la Tabla 15, se determinaron mediante método espectrofotométrico.

Tabla 15. Contenido de compuestos fenólicos de cascara y semilla de palta Hass extraídos a diferentes concentraciones de solvente

| CONCENTRACIÓN DE SOLVENTE | Contenido de compuestos fenólicos (mgGAE/g) | |
|------------------------------|---|------------------------|
| | CÁSCARA | SEMILLA |
| 0% | 57.118±4.382 | 61.9315±6.0413 |
| 10% | 75.7717±1.8467 | 90.6886±3.5582 |
| 20% | 92.0198±7.3424 | 120.181±2.2708 |
| 30% | 108.0656±5.5884 | 135.2637±2.6745 |
| 40% | 126.5128±3.0054 | 145.2467±3.6727 |
| 50% | 129.8649±2.651 | 124.8142±3.1126 |
| 60% | 121.2499±3.9474 | 114.0799±2.0479 |
| 70% | 76.9151±2.0963 | 106.5616±2.3635 |
| 80% | 72.6049±6.6496 | 98.3846±7.5695 |
| 90% | 55.1062±2.8051 | 90.6294±4.0214 |

Se realizó el análisis estadístico de varianza (ANOVA) (ANEXO 3) de los resultados obtenidos, demostrando que, si existen diferencias significativas entre los datos agrupados.

Cada análisis tuvo el valor P menor a 0.05, lo que demuestra que el factor concentración de solvente, si influye en la extracción de los compuestos fenólicos totales, con un nivel del 95% de confianza

La Tabla 15, muestra la relación de la variable Concentración de solvente en la extracción de compuestos fenólicos. Se muestra que el solvente juega un papel importante en la transferencia de masa de los compuestos, ya que tanto en la semilla como en la cascara de palta Hass la cantidad de compuestos fenólicos incrementa de 57.118 mgGAE/g hasta 129 mgGAE/g y de 61 mgGAE/g a 145.2467 mgGAE/g, respectivamente.

Al adicionar cierta cantidad de agua al etanol puede incrementar la eficiencia de la extracción. (Yu et al., 2002, citado por Wang J. et al, 2008). La mezcla etanol-agua fue usada como solvente en la presente investigación.

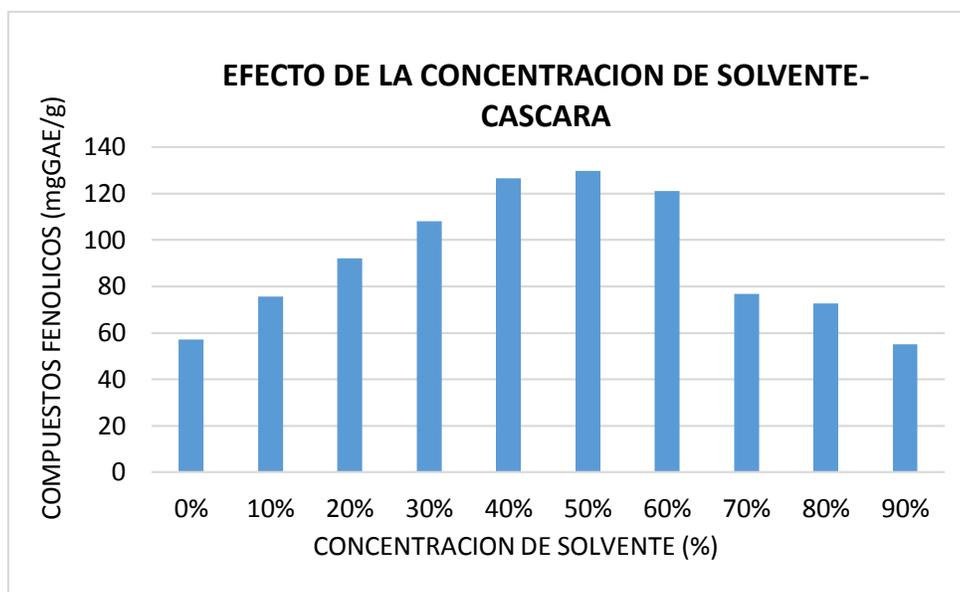


Figura 12. Efecto de la concentración de solvente en el contenido de compuestos fenólicos de Cáscara de palta Hass, bajo condiciones de extracción a 50°C y 60 minutos.

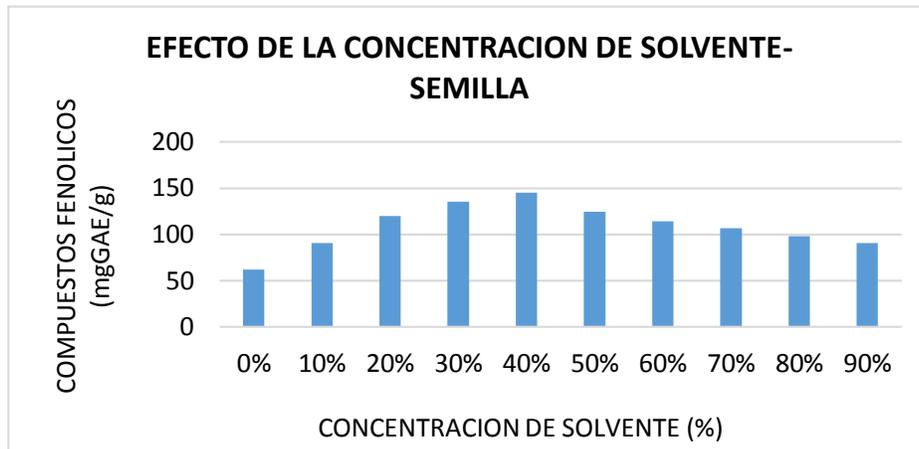


Figura 13. Efecto de la concentración de solvente en el contenido de compuestos fenólicos de la Semilla de palta Hass, bajo condiciones de extracción a 50°C y 60 minutos.

El efecto de la concentración de etanol en el solvente para la extracción se muestra en las Figuras 13 y 14, cuando incrementa la concentración de etanol desde 0 hasta 50%, en caso de la cascara, y en la semilla de 0 hasta 40%, la cantidad de polifenoles también incrementa. Así como cuando la concentración de etanol alcanza el 70%, el contenido de polifenoles en la cascara de palta Hass extraídos disminuye rápidamente. Un efecto similar fue presentado por Hui Teng et al. (2010) quien extrajo polifenoles de membrillo chino (*Chaenomeles sinensis*).

La extracción se realizó con solvente etanol- agua, debido a que muchos autores utilizaron esta mezcla para extraer diferentes polifenoles de materias primas. Aunque las agliconas de los compuestos fenólicos son altamente solubles en solventes como metanol, etanol y agua (González R. et. al, 2010) sin embargo, al utilizar como solvente el etanol en lugar de metanol reduce la toxicidad de los extractos (Saha J., 2011, citado por Segovia F., 2014)

En la Figura 14, se observa que la concentración de solvente más eficiente para la extracción de cascara y semilla de palta Hass fue 50% y 40 % respectivamente,

resultados similares respecto Rodriguez M. & Suarez L (2019), en su investigación para la extracción de compuestos fenólicos en Panisara donde a 45% de etanol se extrajo la mayor cantidad.

Por otro lado, otro factor de extracción de los compuestos fenólicos depende de su solubilidad, los cuales pueden ser extraíbles y no extraíbles. Aquellos de bajo peso molecular son los extraíbles, que son solubles en solventes orgánicos-acuoso o la mezcla de ellos tales como etanol, metanol, agua, etc (Antolovich, 2000, citado por Rodriguez M. & Suarez L., 2019)

La selección de la concentración de solvente depende también de la matriz vegetal (Gonzales 2010, citado por 2), en el caso de los residuos de palta has el porcentaje de fibra es alto, por lo que según Huaman M. (2014), para los alimentos fibrosos el solvente metanol- agua, por la polaridad de la mezcla, son altamente eficientes. Harris C. (2007), clasifico la polaridad del alcohol etílico como intermedia fuerte. La polaridad indica la propiedad de las moléculas que representa la separación de las cargas eléctricas dentro de la molécula, y está ampliamente relacionado con la solubilidad. (Huaman M., 2014)

Sin embargo, según Huaman M. (2014), en su investigación con semilla de palta Hass, concluye que la acetona es uno de los solventes más eficientes para la extracción de polifenoles en alimentos proteicos, a pesar de esto, en la Tabla 13, en el resultado de contenido de fibra es mucho más alto que el de proteína, por lo que en Semilla y cascara de palta, no sería adecuado trabajar con este solvente.

La sonificación logró extraer compuestos fenólicos en semilla y cascara de palta Hass, debido a los efectos mecánicos que inducen a la penetración del solvente en los matrices vegetales, de acuerdo con Dueñas J. (2017)

4.3.2. EFECTO DE LA TEMPERATURA EN LA EXTRACCIÓN DE COMPUESTOS FENOLICOS

Tabla 16. Contenido de Compuestos Fenólicos de cascara y semilla de palta Hass extraídos a diferentes temperaturas

| TEMPERATURA | Contenido de compuestos fenólicos (mgGAE/g) | |
|-------------|--|-----------------|
| | CÁSCARA | SEMILLA |
| | 30 °C | 99.8513±5.6594 |
| 40 °C | 116.5327±5.1023 | 124.0658±4.2538 |
| 50 °C | 125.6508±3.8167 | 138.8914±8.9066 |
| 60 °C | 117.5302±2.0156 | 119.3606±6.2203 |
| 70 °C | 113.2229±0.4806 | 111.7049±2.211 |

Mediante el análisis ANOVA (ANEXO 3) entre las medias, se obtiene el valor P menor a 0.05, para cada uno de los casos, lo que significa que sí existen diferencias significativas entre los datos, es decir que al 95% de confianza la temperatura sí influye en la extracción del contenido de compuestos fenólicos tanto en cascara como en semilla de palta Has.

La Tabla 16, muestra la cantidad de compuestos fenólicos extraídos, en donde la semilla obtuvo mayor cantidad de compuestos con 138.9014 mgGAE/g y la cascara fue de 125.6508 mgGAE/g. En el proceso de extracción se evaluó la temperatura, y se demostró que a 50°C extrajo mayor cantidad de compuestos fenólicos tanto en cáscara y semilla de palta Hass y que al aumentar la temperatura hasta 70°C, los compuestos fenólicos disminuyen. Otro estudio sobre polifenoles en semilla de uva,

reportó que al aumentar la temperatura de 50° a 65°C aumenta también los compuestos fenólicos. (Youseff & El Adawi, 2006, Quiroz N., 2016)

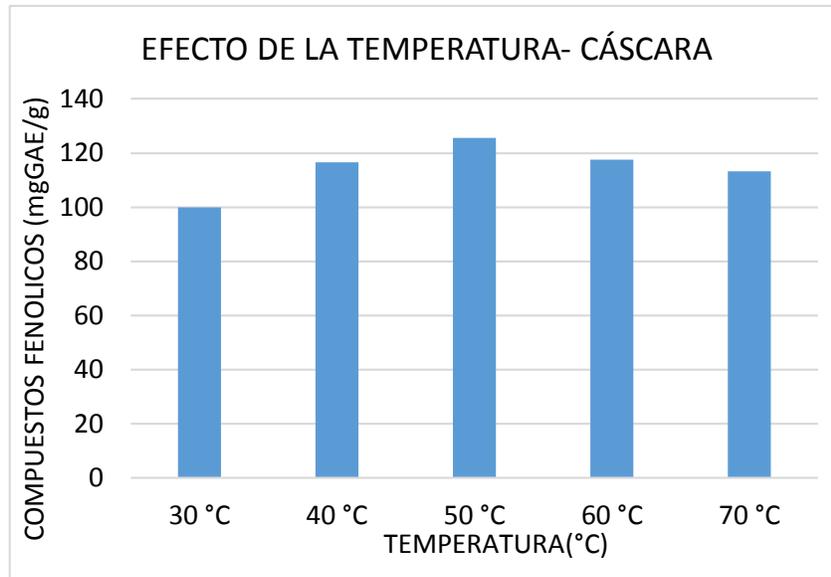


Figura 14. Efecto de la temperatura en el contenido de compuestos fenólicos de Cáscara de palta Hass, bajo condiciones de extracción a una concentración de 50% y 60 minutos.

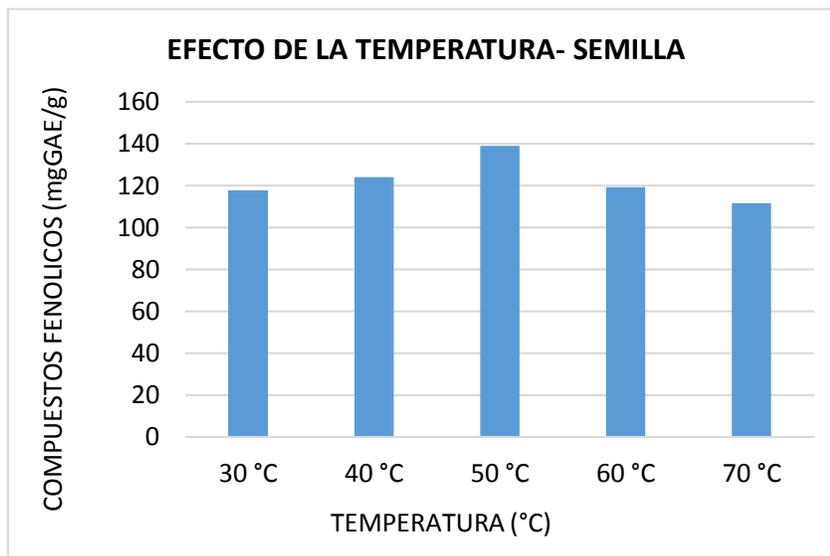


Figura 15. Efecto de la temperatura en el contenido de compuestos fenólicos de Cáscara de palta Hass, bajo condiciones de extracción a una concentración de 40% y 60 minutos

La figura 15 y 16, muestran el efecto de la temperatura de extracción asistida por ultrasonido en el contenido de compuestos fenólicos extraídos de la cáscara y semilla de palta Hass. Se observó un incremento significativo desde los 30°C a 50° en el contenido de compuestos fenólicos totales, mientras que mayores a 50°C hasta los 70°C se observa una disminución.

Según el análisis realizado la temperatura tiene un efecto significativo sobre la extracción de compuestos fenólicos, ya que al realizar variaciones de temperatura en la extracción se observa que los valores aumentan o disminuyen (Figura 15 y 16). Resultados similares reporto Paladino S. (2008) en su estudio sobre extracción de antioxidantes en semillas de uva.

La temperatura es un factor importante en la extracción, debido a que ayuda a la penetración del solvente a las membranas semipermeables de la matriz vegetal (Arranz S., 2010) lo que ayuda a la liberación de los compuestos fenólicos.

Dueñas J. (2017), dice que el aumento o disminución de temperatura está en función proporcional a la velocidad de extracción. Lo mismo Arranz S. (2010), explica que el aumento de temperatura favorece al aumento del coeficiente de difusión, por lo que la extracción es más rápida. Sin embargo, las elevadas temperaturas ocasionan degradación enzimática y química, así como la descomposición térmica afectando la estabilidad de los compuestos fenólicos. (González R., et al., 2010). 2). La extracción a bajas temperaturas evita la degradación de los compuestos termolábiles. (Barba F. et al, 2016, citado por Dueñas, 2017)

Un ejemplo claro es la investigación de Huaman M. (2014), quien realizó la extracción de compuestos fenólicos a 30°C durante 12 horas mediante el método de agitación solido-liquido empleando acetona, con la finalidad de conservar las

propiedades de la Semilla de Palta Hass, obteniendo resultados de 24.4019 mg GAE/g muestra.

Sin embargo, los resultados de Huaman M. (2014) son mucho menores a los obtenidos en esta investigación, en la cual mediante extracción asistida por ultrasonido se obtuvo un contenido de compuestos fenólicos de 145.221 mgGAE/gm en Semilla de Palta Hass (Tabla 16), a condiciones de temperatura de 50°C durante 60 minutos y 40% etanol como solvente; comprobándose que la temperatura influye en la velocidad de extracción de los compuestos fenólicos.

4.3.3.EFECTO DEL TIEMPO EN LA EXTRACCIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS

Tabla 17. Contenido de compuestos fenólicos de cascara y semilla de palta Hass extraídos a diferentes temperaturas

| TIEMPO | Contenido de compuestos fenólicos (mgGAE/g) | |
|---------|---|-----------------|
| | CÁSCARA | SEMILLA |
| 20 min | 104.2548±3.3022 | 123.0524±5.373 |
| 40 min | 114.9794±0.7806 | 130.0675±4.9681 |
| 60 min | 124.1429±2.5707 | 142.4826±1.0099 |
| 80 min | 121.6641±1.4829 | 119.8164±8.3156 |
| 100 min | 114.281±1.4971 | 118.3116±5.8407 |

De acuerdo al análisis de varianza (ANOVA) (Anexo5, Tbla1 y2), resulto un valor P menor a 0.05, lo que afirma que existen diferencias significativas en el contenido de compuestos fenólicos al realizar la extracción a distintos tiempos con un nivel de 95% de confianza.

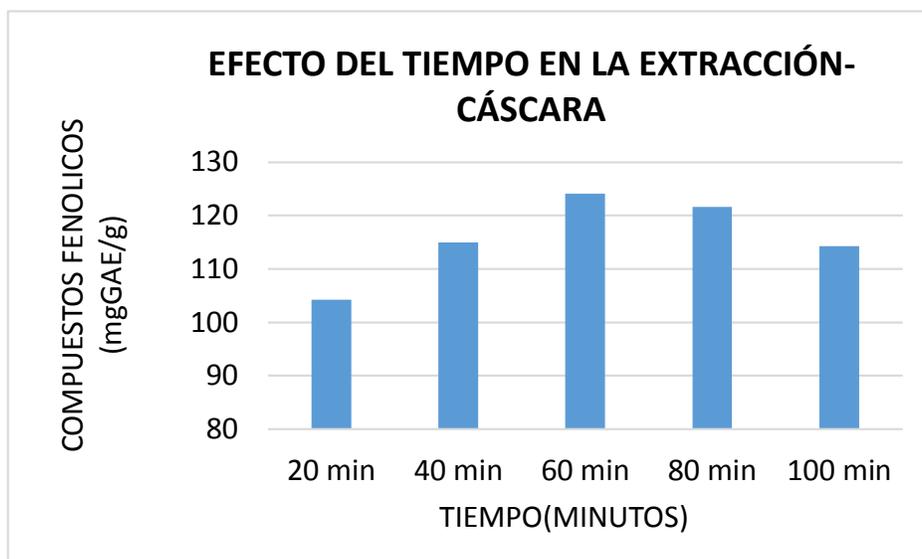


Figura 16. Efecto del tiempo en el contenido de compuestos fenólicos de Cáscara de palta Hass, bajo condiciones de extracción a una concentración de 50% a 50°C

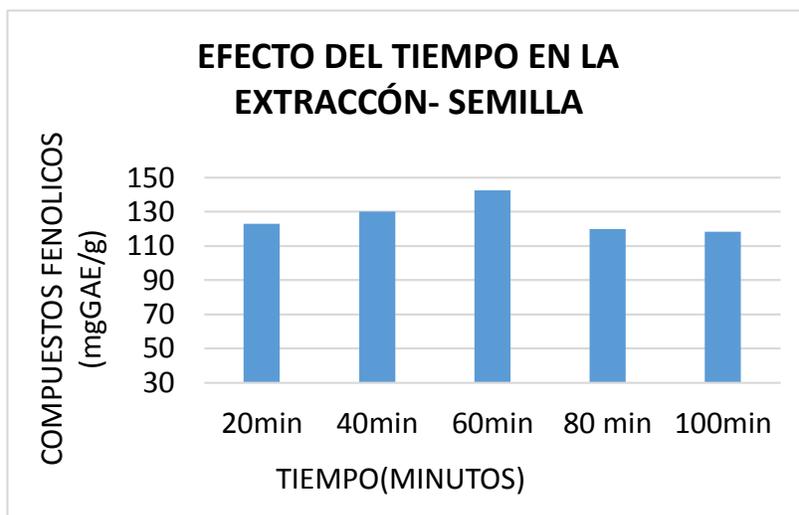


Figura 17. Efecto del tiempo en el contenido de compuestos fenólicos de Cáscara de palta Hass, bajo condiciones de extracción a una concentración de 40% a 50°C

En la figura 17 y 18, se presenta un rango de tiempo (20min-100min) para la extracción de los compuestos fenólicos, alcanzando un mayor contenido en un tiempo total de 60 minutos, el cual consta de dos intervalos de 30 minutos cada uno.

Estos resultados confirman lo dicho por Arranz S. (2010) quien manifestó que para obtener una mayor extracción de compuestos fenólicos se utilizan tiempos de 50-60 minutos.

El tiempo es uno de los factores más importantes en la extracción de compuestos fenólicos, debido a que el tiempo de interacción del soluto con el solvente mejora la eficiencia de la extracción. (Hossain et al. 2012, Medina N., 2017). En el presente trabajo el tiempo de extracción fue de 60 minutos para ambos residuos de la palta Has obteniendo la mayor cantidad de compuestos fenólicos. Según, Sahin S. (2013) y Tao et al. (2014), citados por Medina N. (2017) existen dos etapas de extracción, la primera “etapa de lavado” que extrae hasta el 90% de compuestos fenólicos en los primeros 20 minutos, produciéndose aquí la disolución de los compuestos solubles de la superficie de la matriz vegetal; y la segunda etapa, “etapa de extracción lenta” la cual se realiza hasta los 60 minutos. Siendo la finalidad de este trabajo obtener el mayor contenido de compuestos fenólicos, se realizó la extracción por ultrasonido a tiempos de hasta 60 minutos.

Arranz S. (2010), expresó que, al realizar la extracción a periodos largos de tiempo, pueden producir oxidaciones, y que los tiempos pueden ir desde 1 minuto a 24 horas. En este caso se empleó 60 minutos y se extrajo una cantidad alta de compuestos fenólicos en comparación con otras investigaciones como la de Tremocoldi M., et al (2010), por lo que se puede decir que el tiempo de extracción depende del método que se emplee.

Por otro lado, un adecuado tiempo de extracción evita el uso innecesario de energía y hace el proceso es más eficiente. (Medina-Torres et al, 2017, citado por Herrera N. et al, 2019)

Es por ello que emplear la extracción asistida por ultrasonido es importante debido a que la cavitación trae como consecuencia una mejor interacción de la mezcla soluto-solvente mejorando así la transferencia de masa, por lo tanto al incrementar el tiempo de extracción el rendimiento aumenta, sin embargo se debe tener en cuenta que someter a largos periodos de tiempo a sonificación puede desestabilizar los compuestos fenólicos (González R., et al., 2010)

4.3.4. OPTIMIZACIÓN DE LAS CONDICIONES DE EXTRACCIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS TOTALES EN RESIDUOS DE PALTA HASS

En el presente trabajo se realizó el análisis del efecto de tres parámetros de extracción a tres niveles para la obtención de polifenoles. Los datos presentados en el Anexo 4, son resultados del diseño factorial 2^3 aplicados a la extracción asistida por Ultrasonido, que cuantifican la concentración compuestos fenólicos en cascara y semilla de palta Hass.

Además, se aplicó la metodología de superficie de respuesta (MRS), de acuerdo al diseño experimental Box-Behnken, resultando 30 corridas experimentales. Posteriormente los resultados obtenidos experimentalmente se ajustaron a un modelo cuadrático para evaluar la significancia de los factores: concentración de solvente, temperatura y tiempo en la extracción de compuestos fenólicos.

a. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS FACTORES DE EXTRACCIÓN EN CÁSCARA DE PALTA HASS

Se realizó un ANOVA factorial de 3 factores (Tabla 18), para poder evaluar de forma individual y a su vez cada dos factores, si tuvieron efecto sobre la variable dependiente.

Tabla 18. Análisis de Varianza para compuestos fenólicos totales de la Cascara de
Palta Hass

| Fuente | Suma de Cuadrados | Gl | Cuadrado Medio | Razón -F | Valor-P |
|-----------------------------|-------------------|----|----------------|----------|---------------|
| A:Temperatura | 73.6454 | 1 | 73.6454 | 6.10 | 0.0231 |
| B:Concentracion de solvente | 78.1645 | 1 | 78.1645 | 6.48 | 0.0198 |
| C:Tiempo | 97.6841 | 1 | 97.6841 | 8.09 | 0.0104 |
| AA | 415.327 | 1 | 415.327 | 34.41 | 0.0000 |
| AB | 11.0538 | 1 | 11.0538 | 0.92 | 0.3506 |
| AC | 402.462 | 1 | 402.462 | 33.35 | 0.0000 |
| BB | 1889.09 | 1 | 1889.09 | 156.52 | 0.0000 |
| BC | 79.3672 | 1 | 79.3672 | 6.58 | 0.0190 |
| CC | 343.947 | 1 | 343.947 | 28.50 | 0.0000 |
| bloques | 0.445225 | 1 | 0.445225 | 0.04 | 0.8497 |
| Error total | 229.315 | 19 | 12.0692 | | |
| Total (corr.) | 3350.96 | 29 | | | |

Los factores de extracción: concentración de solvente, tiempo y temperatura tienen el valor P menor que 0.05, es decir que sí existe un efecto significativo de estos parámetros en la concentración de compuestos fenólicos de cascara de palta Hass con un 95% de confianza.

En la Figura 19 se puede observar de qué manera los factores (concentración de solvente, tiempo y temperatura) afectan a la extracción asistida por Ultrasonido, indicando la significancia estadística de los efectos. Esto fue calculado al dividir el efecto entre su error estándar con la finalidad de así estimar las variaciones experimentales entre los tres factores analizados, su interacción en pares y el efecto cuadrático de cada factor.

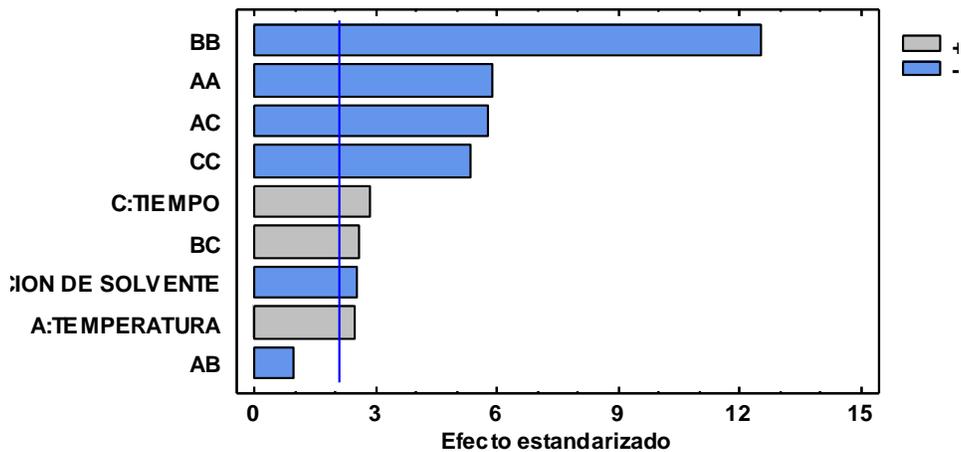


Figura 18. Diagrama de Pareto estandarizada para compuestos fenólicos de Cáscara de Palta Hass

La tabla 19 indica los Coeficientes de regresión para la ecuación del Modelo ajustado de la superficie de respuesta obtenida para la optimización de los compuestos fenólicos en cascara de palta Hass.

$$\begin{aligned} \text{Compuestos fenólicos de Cascara de palta Hass} = & -621.075 + 10.4296*A + 15.416*B \\ & + 3.15671*C - 0.0749948*A^2 - 0.0117547*A*B - 0.035464*A*C - 0.159942*B^2 + \\ & 0.0157487*B*C - 0.0170617*C^2 \dots\dots\dots(\text{Ecuación 1}) \end{aligned}$$

Tabla 19. Coeficiente de Regresión para Compuestos fenólicos en Cascara de Palta

Hass

| Coeficiente | Estimado |
|------------------------------|------------|
| constante | -621.075 |
| A: Temperatura | 10.4296 |
| B: Concentración de solvente | 15.416 |
| C: Tiempo | 3.15671 |
| AA | -0.0749948 |
| AB | -0.0117547 |
| AC | -0.035464 |
| BB | -0.159942 |
| BC | 0.0157487 |
| CC | -0.0170617 |

Además, la ecuación del Modelo ajustado de Superficie de Respuesta presenta un Coeficiente de determinación de 0.9316, lo que demuestra que el modelo explica el 93.16% de la variabilidad de los compuestos fenólicos totales en Cascara de palta Hass.

b. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS FACTORES DE EXTRACCIÓN EN SEMILLA DE PALTA HASS

Se realizó un análisis estadístico (ANOVA), para determinar la significancia que hay entre la variable independiente sobre la dependiente.

Tabla 20. Análisis de varianza para compuestos fenólicos totales de semilla de palta hass en la extracción asistida por ultrasonido

| Fuente | Suma de Cuadrados | Gl | Cuadrado Medio | Razón-F | Valor-P |
|-----------------------------|-------------------|----|----------------|---------|---------------|
| A:Temperatura | 96.6201 | 1 | 96.6201 | 13.39 | 0.0017 |
| B:Concentración de solvente | 45.1628 | 1 | 45.1628 | 6.26 | 0.0217 |
| C:Tiempo | 60.549 | 1 | 60.549 | 8.39 | 0.0092 |
| AA | 189.655 | 1 | 189.655 | 26.28 | 0.0001 |
| AB | 1.93366 | 1 | 1.93366 | 0.27 | 0.6107 |
| AC | 180.877 | 1 | 180.877 | 25.07 | 0.0001 |
| BB | 488.538 | 1 | 488.538 | 67.71 | 0.0000 |
| BC | 0.521016 | 1 | 0.521016 | 0.07 | 0.7910 |
| CC | 324.332 | 1 | 324.332 | 44.95 | 0.0000 |
| bloques | 1.15127 | 1 | 1.15127 | 0.16 | 0.6940 |
| Error total | 137.098 | 19 | 7.21567 | | |
| Total (corr.) | 1400.29 | 29 | | | |

En el resultado del análisis estadístico (ANOVA), en la tabla 20, nos indica 7 efectos que tienen un valor-P menor que 0.05, indicando que son significativamente diferentes de cero con un nivel de confianza del 95.0%. Esto significa que las condiciones de temperatura, concentración y tiempo presentan un efecto significativo sobre la extracción de compuestos fenólicos totales en semilla de palta Hass.

En la figura 20, se observa cómo los factores (concentración de solvente, temperatura y tiempo) afectan a la extracción asistida por ultrasonido para determinar los compuestos fenólicos de la Semilla de palta Hass.

Esto fue calculado al dividir el efecto entre su error estándar para estimar las variaciones experimentales entre los tres factores analizados, su interacción en pares y el efecto cuadrático de cada factor.

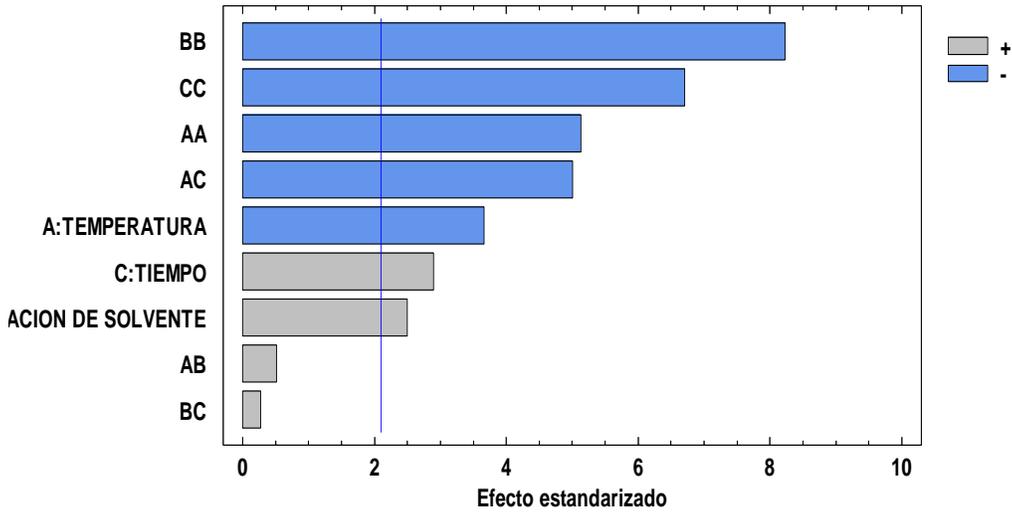


Figura 19. Diagrama de Pareto estandarizada para compuestos fenólicos totales en semilla de palta Hass.

En la tabla 21 se observa los coeficientes de regresión para la ecuación del modelo ajustado que corresponde a la superficie de respuesta obtenida para la optimización de los compuestos fenólicos totales en semilla de palta Hass.

$$\text{COMPUESTOS FENOLICOS TOTALES} = -230.765 + 6.05187*A + 6.35254*B + 3.22313*C - 0.0506778*A^2 + 0.00491637*A*B - 0.0237748*A*C - 0.0813364*B^2 + 0.001276*B *C - 0.016568*C^2 \dots\dots\dots(\text{Ecuación 2})$$

Tabla 21. Coeficiente de regresión para compuestos fenólicos totales en semilla de palta Hass.

| Coeficiente | Estimado |
|------------------------------|------------|
| constante | -230.765 |
| A: Temperatura | 6.05187 |
| B: Concentración de solvente | 6.35254 |
| C: tiempo | 3.22313 |
| AA | -0.0506778 |
| AB | 0.00491637 |
| AC | -0.0237748 |
| BB | -0.0813364 |
| BC | 0.001276 |
| CC | -0.016568 |

Por otro lado, la ecuación del modelo ajustado de la superficie de respuesta presenta un coeficiente de determinación igual a 0.9021, lo que significa que el modelo explica el 90.2093% de la variabilidad en la extracción de compuestos fenólicos totales en semilla de palta Hass.

c. ANÁLISIS DE OPTIMIZACIÓN DE LA EXTRACCIÓN ASISTIDA POR ULTRASONIDO EN CÁSCARA Y SEMILLA DE PALTA HASS

Los datos obtenidos experimentalmente se procesaron mediante la metodología de Superficie de Respuesta en el programa estadístico StatGraphics Centurion XVI.II, en donde se obtuvieron las gráficas (figura 21,22 y 23) para la semilla y cascara de palta Hass, a partir del modelo generado para cada uno (Ecuación 1 Y 2).

La figura 21,22 y 23, se observan las gráficas de superficie de respuestas de las condiciones de temperatura, tiempo y concentración de solvente con respecto a la Contenido de Compuestos Fenólicos Totales en semilla de palta Hass

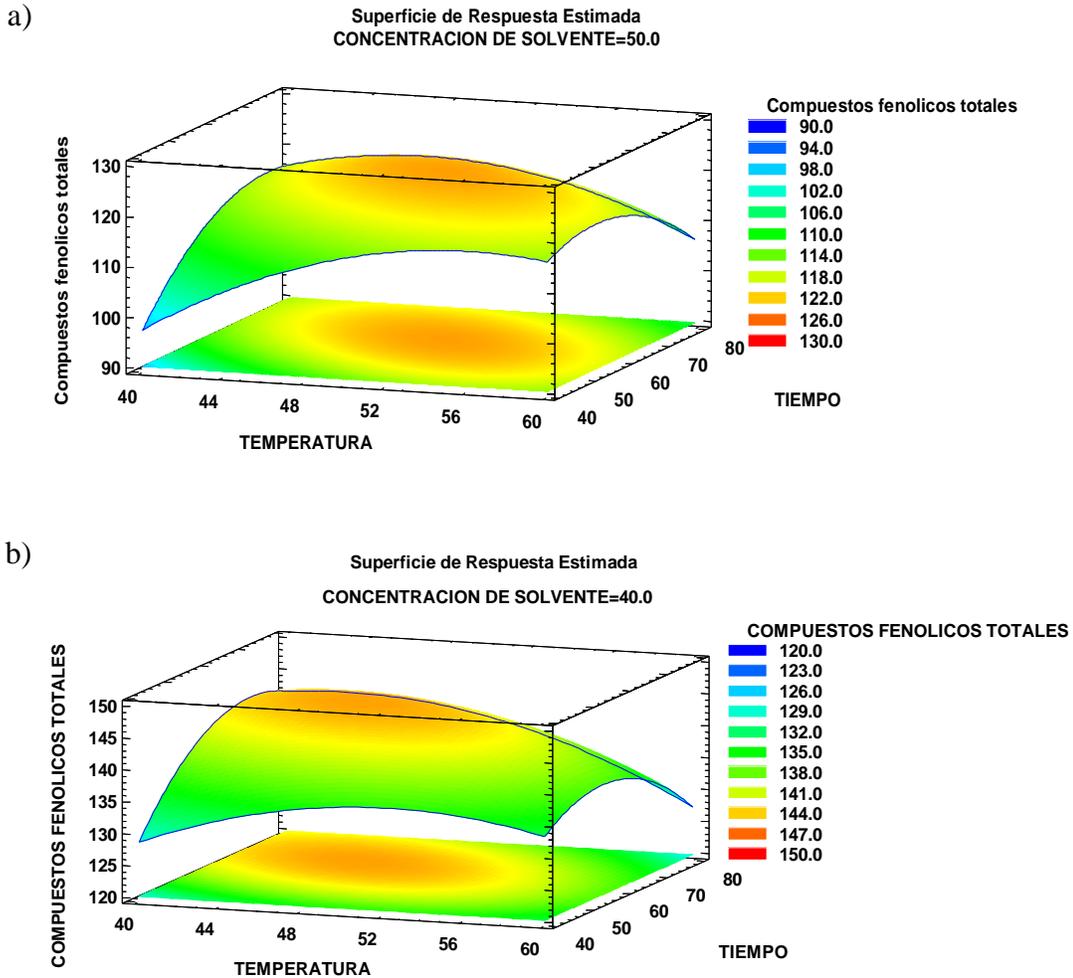


Figura 20. a) Gráfica de Superficie de Respuesta de Temperatura, Tiempo y Compuestos Fenólicos Totales de Cascara de Palta Hass b) Grafica de Superficie de Respuesta de Temperatura, Tiempo y Compuestos Fenólicos Totales de Semilla de Palta Hass

En la figura 21 se muestra el efecto de la temperatura y tiempo de extracción en la cantidad de compuestos fenólicos a partir de cáscara y semilla de palta Hass. Existe un

aumento de compuestos fenólicos al aumentar el tiempo a una temperatura fijada, hasta llegar a un pico de extracción máxima de compuestos fenólicos, para luego descender. En el caso de la temperatura de extracción a un tiempo fijado, también se observa que hay un aumento de compuestos fenólicos al aumentar la temperatura, hasta llegar a la temperatura óptima, y luego desciende.

Según el modelo, con las condiciones óptimas de extracción se obtuvo un valor máximo de compuestos fenólicos en residuos de palta Hass de 123.623 mgGAE/g en cascara y 145.221 mgGAE/g en semilla.

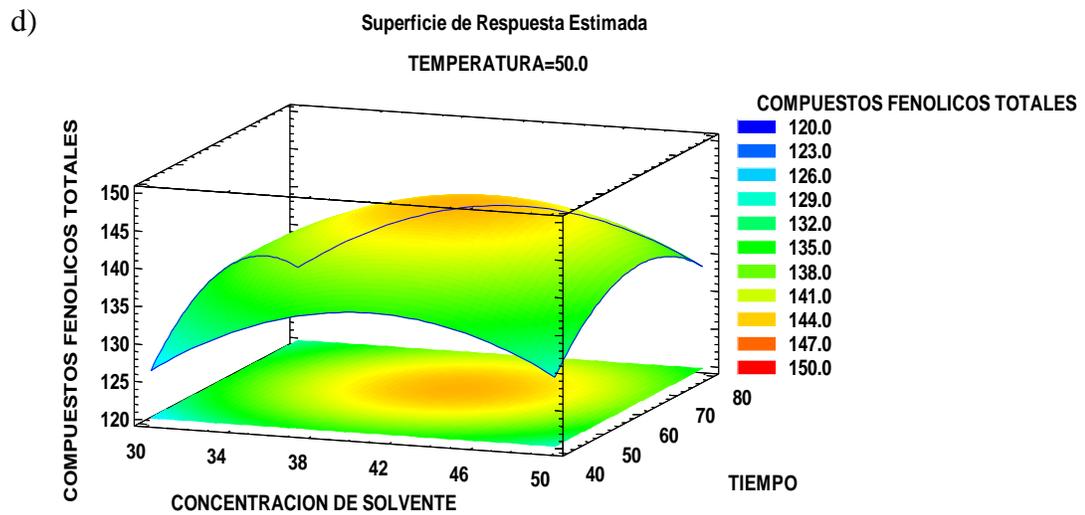
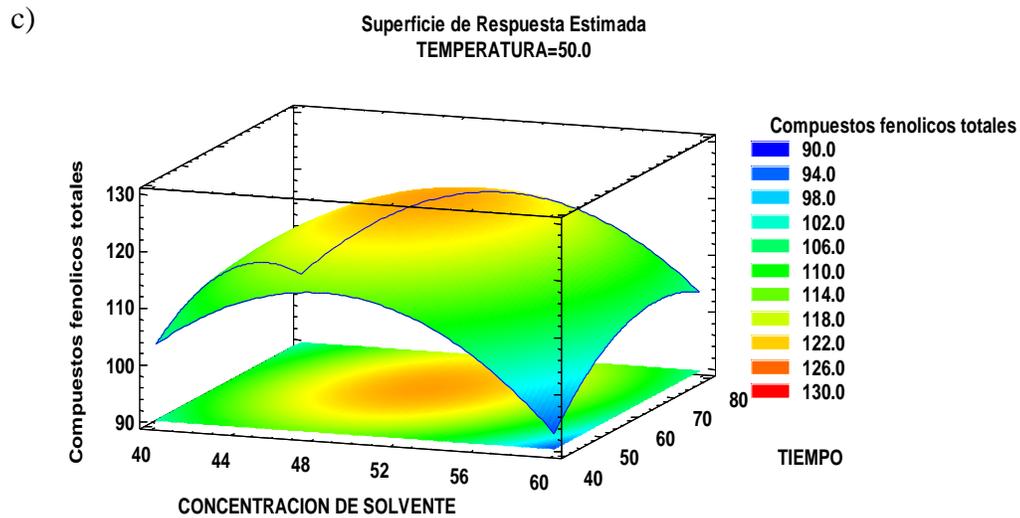


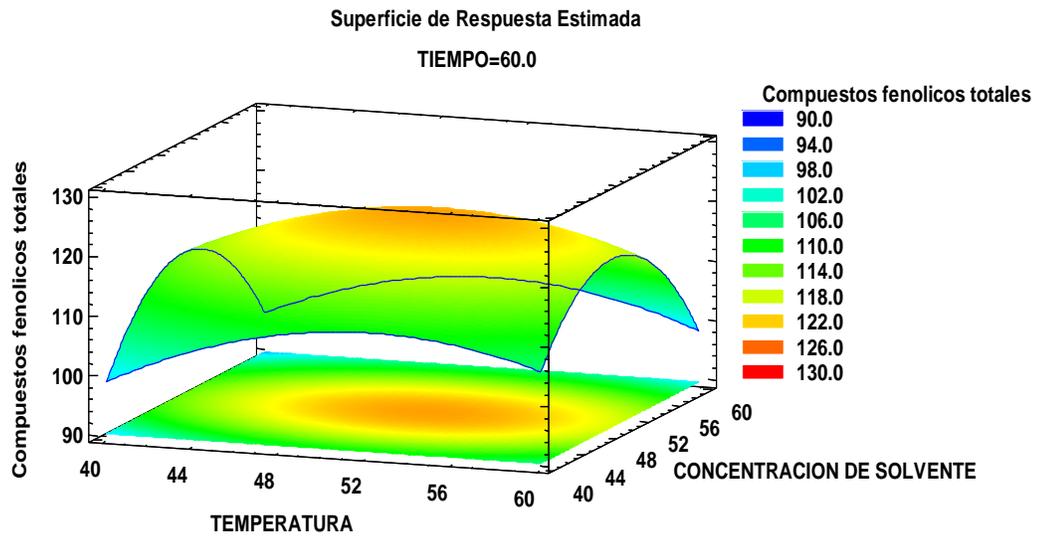
Figura 21. c) Gráfica de Superficie de Respuesta de Concentración de Solvente, Tiempo y Compuestos Fenólicos Totales de Cascara de Palta Hass. d) Grafica de Superficie de Respuesta de Concentración de Solvente, Tiempo y Compuestos Fenólicos Totales de Semilla de Palta Hass.

En la figura 22, se refleja el efecto de la concentración y tiempo en el contenido de compuestos fenólicos. Se muestra que, al aumentar el tiempo a una concentración de solvente establecido, aumenta el contenido de compuestos fenólicos, hasta llegar un punto óptimo, luego de ello, comienza a decrecer lentamente.

En la cascara de palta Has, se observa que la cantidad de compuestos fenólicos a un tiempo establecido de 62 minutos (óptimo) aumenta conforme va aumentando la concentración de solvente, hasta llegar a su pico máximo del valor de compuestos fenólicos (49% de etanol), y luego disminuye rápidamente.

En el caso de la extracción de compuestos fenólicos de la Semilla, la gráfica muestra que, al aumentar la concentración del solvente a un tiempo fijado, la cantidad de compuestos fenólicos aumenta rápidamente, hasta llegar al óptimo de 41% de concentración, para luego descender su valor gradualmente

e)



f)

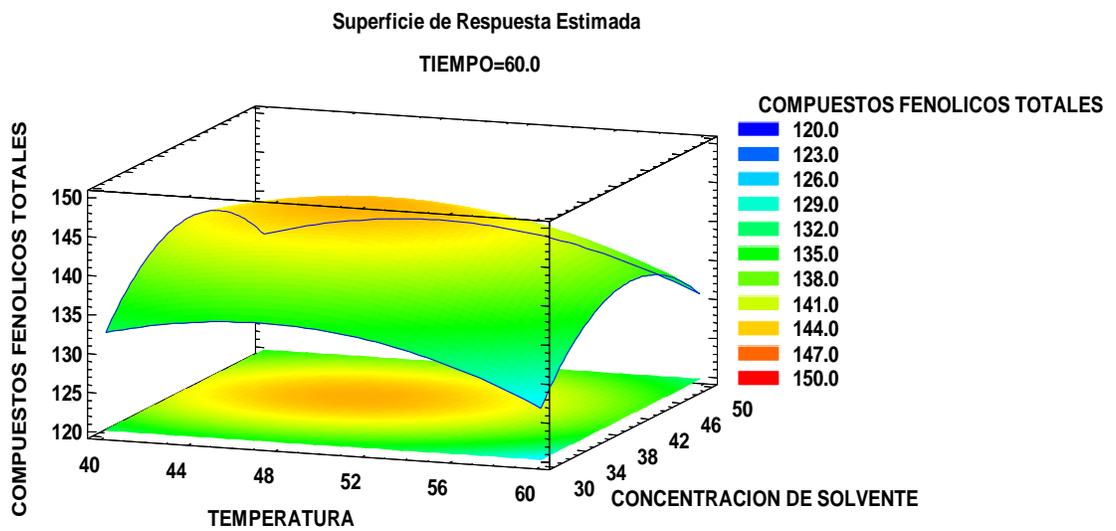


Figura 22. e) Gráfica de Superficie de Respuesta de Temperatura, Concentración de Solvente y Compuestos Fenólicos Totales de Cascara de Palta Hass. f) Gráfica de Superficie de Respuesta de Temperatura, Concentración de Solvente y Compuestos Fenólicos Totales de Semilla de Palta Hass.

En la figura 23, muestra el efecto de la concentración de etanol y temperatura de extracción en el contenido de compuestos fenólicos totales. El contenido de compuestos fenólicos totales aumentó con el aumento de la concentración de compuestos fenólicos a una temperatura establecida, hasta llegar a un pico en donde se obtuvo la mayor concentración de compuestos fenólicos, para luego ir descendiendo. Algo similar se observa con la temperatura, al aumentar la temperatura a una concentración de solvente establecida aumenta la cantidad de compuestos fenólicos, hasta llegar a la temperatura óptima de máxima extracción, para luego decrecer gradualmente.

d. Zonas Óptimas de Extracción

De las gráficas de superficie de respuesta (Figura 21 ,22 y 23) tanto de cascara como de semilla de palta Hass, se obtuvieron las zonas óptimas de las condiciones de extracción para obtener el mayor contenido de compuestos fenolicos tanto en la Cáscara y Semilla de Palta Hass.

En la Tabla 22, se puede observar las condiciones óptimas de extracción asistida por Ultrasonido para maximizar Compuestos fenólicos en la Cascara y Semilla de Palta Hass.

Tabla 22. Condiciones óptimas de Extracción de Compuestos fenólicos en Cascara y semilla de Palta Hass.

| | Temperatura | Concentración | Tiempo | RESPUESTA |
|---------|-------------|---------------|---------|-----------|
| | | de Solvente | | (mgGA/g) |
| CASCARA | 50.9097 | 49.3949 | 62.3951 | 123.623 |
| SEMILLA | 46.3062 | 40.9669 | 65.6168 | 145.221 |

La Tabla 22, refleja el análisis realizado anteriormente a cada variable independiente, en donde la mayor extracción se dio en concentraciones intermedias de etanol, temperaturas medias de extracción y a tiempos cercanos a 1 hora. En el caso de la extracción de compuestos fenólicos de cascara de palta Hass a condiciones óptimas sería a una temperatura de 51°C, 49% de concentración de solvente y a 62 minutos. La extracción en semilla sería a 46°C, a 41% de concentración de solvente por 66 minutos.

Segovia F. (2014), en su investigación en Semilla de Palta Hass optimizó las condiciones de extracción obteniendo 51,75 mgGAE/g muestra, cuyas condiciones de extracción fueron 56% de concentración de etanol, 63°C por 23 minutos. Estos resultados resultan ser bajos en comparación con el contenido de compuestos fenólicos obtenidos en la presente investigación (145.221 mgGAE/g muestra), y puede deberse a que en nuestra investigación se realizó doble extracción durante 60 minutos (30 minutos cada una), debido a la gran variedad de compuestos fenólicos que posee la semilla, los cuales están adheridos a compuestos como carbohidratos y proteínas (Haminiuk et al., 2012, citado por Quiroz, 2016), por lo que la extracción de estos compuestos no es completa. Por otro lado, la gran cantidad de compuestos fenólicos presentes en la Semilla de Palta, se justifica en la naturaleza de los polifenoles presentes en ella, principalmente el ácido clorogénico y ácido protocatequico las cuales son altamente solubles en agua. (Ramo P. et al., 2012, citado por Segovia et al., 2014)

De los resultados en Cáscara de palta Hass, se obtuvo un contenido de compuestos fenólico de 123.623 mgGAE/g a condiciones óptimas de extracción. Sin embargo,

Tremocoldi M. et al (2018) en su estudio analizó el contenido de compuestos fenólicos y obtuvo resultados mucho menores llegando a obtener solo 63.5 ± 7.2 mg GAE/g a condiciones de extracción de 80% de concentración de etanol, a 25°C durante 25 minutos. El bajo contenido de compuestos fenólicos reportados puede ser causado por los tiempos cortos y bajas temperaturas de extracción, ya que a altas temperaturas favorecen la penetración de solvente en la muestra y ayuda a obtener una mejor extracción. (Gonzales R. et al., 2010)

El método empleado para obtener extraer compuestos fenólicos es mediante baño ultrasónico, debido al bajo costo, simplicidad y efectividad de la extracción (Ghafoor et al., 2009; Ivanovic et al., 2014, citado por Quiros N., 2016), los tiempos óptimos requeridos fueron de 63 y 66 minutos para la extracción de cascara y semilla de palta Hass respectivamente, lo que resulta ser relativamente bajos en comparación con otros métodos convencionales. Esto también fue corroborado por Parniakov O. (2015), en su estudio en hongos, quien demostró que la recuperación de sus compuestos bioactivos son significativamente más eficientes con la extracción asistida por ultrasonido. Además, es importante optimizar los parámetros de extracción para evitar pérdidas de energía (Medina-Torres et al, 2017, citado por Herrera N. et al, 2019), y también logra extraer mayor cantidad de compuestos fenólicos de la muestra.

4.4. ANALISIS DE ANTIOXIDANTES DE CASCARA Y SEMILLA DE PALTA HASS

La tabla 23 muestra los resultados de antioxidante obtenidos con el antioxidante patrón Trolox, con un indicador catión radical DPPH, en el Espectrofotómetro

JASCO modelo V670 leídos a una longitud de onda de 517nm. Los resultados fueron analizados haciendo uso de la curva de calibrado (ANEXO 5, TABLA 49) Las muestras fueron sometidas a una extracción asistida por ultrasonido con las condiciones óptimas de 50% de concentración de solvente, 50°C por 60 minutos para cascara de palta Hass y a 40% de concentración de solvente, 50°C por 60 minutos para semilla de Palta Hass.

Tabla 23. Capacidad antioxidante de semilla y cascara de palta

| MUESTRA | ABSORVANCIA(517nm) | | | CAPACIDAD |
|---------|--------------------|-------------|-------------|---|
| | R1 | R2 | R3 | ANTIOXIDANTE ($\mu\text{mol TE/g.ms}$) |
| CASCARA | 317.9735786 | 318.1739396 | 312.414608 | 316.1874 \pm 3.2688 |
| SEMILLA | 398.0411354 | 406.16632 | 404.6991575 | 402.9689 \pm 4.3301 |

El análisis de eliminación de radicales libres DPPH, mostraron que tanto los extractos de cáscara y semillas ensayadas muestran alta actividad antioxidante. La actividad antioxidante de extracto de semilla Hass (402.9689 \pm 4.3301 $\mu\text{mol TE/g.m}$) fue significativamente diferente de la de extracto de cascara (316.1874 \pm 3.2688 $\mu\text{mol TE/g.m}$). Resultados similares se presenta en la investigación de Tremocoldi M. et al. (2018), quien analizo la semilla y cascara de palta Hass con resultados de 410 y 310 $\mu\text{mol TE/g.m}$ respectivamente.

Si comparamos la capacidad antioxidante de los residuos de palta has, se observa que es mucho mayor a la de la pulpa ($165 \pm 4.36 \mu\text{mol TE}/100\text{g}$), es por ello que es importante su estudio y aprovechamiento. (Moreno E. et al., 2014, citado Choquecondo R., 2019). Así mismo Kosseva M. (2013), afirma que las semillas, cascaras, etc., es decir las porciones no comestibles de las frutas contienen más compuestos activos con mayor actividad antioxidante que la pulpa, tal como fue demostrado en este estudio.

CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

- Los resultados obtenidos en la presente investigación demuestran las condiciones optimizadas para la extracción de compuestos fenólicos presentes en la cáscara de palta Hass que fue de 49% de concentración de solvente, tiempo de 62 minutos y temperatura de 51°C; para la semilla las condiciones fueron 41% de concentración de solvente, tiempo de 66 minutos y temperatura de 46°C, comprobándose así que los valores se encuentran en los rangos propuestos en la hipótesis planteada,
- Se concluye que la mezcla etanol- agua ayuda a la mejor extracción de los compuestos fenólicos debido a su alta polaridad, y además, que los residuos de palta Hass son altamente fibrosos ayudando a la mejor penetración del solvente.
- La Temperatura durante la extracción por ultrasonido se debe controlar, ya que, si existe un gran aumento de la temperatura produce degradación enzimática, sin embargo, también favorece a la penetración de solvente en la matriz vegetal
- La optimización del tiempo de extracción por ultrasonido provoca una mejor eficiencia del proceso de extracción, este factor y la temperatura, están relacionados debido a que mayor temperatura menor tiempo de extracción, y a bajas temperaturas mayor tiempo de extracción.

5.2. RECOMENDACIONES

- Se recomienda evaluar otros tamaños de partícula de las harinas de cascara y semilla de palta Hass, ya que, de acuerdo con bibliografía, este factor tiene un efecto en la extracción de compuestos fenólicos.
- Realizar otro método de secado como la liofilización para poder conservar el mayor contenido de compuestos bioactivos de la cáscara y semilla de palta Hass.
- Debido al alto contenido que poseen los residuos de palta Hass, podrían ser industrializados como aditivos alimentarios.
- Se recomienda realizar estudios mas profundos utilizando extracción a bajas temperaturas durante mas tiempo de extraccion

CAPÍTULO VI: REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Arlene A, et al, (2015) “The Preliminary Study of the Dye Extraction from the Avocado Seed Using Ultrasonic Assisted Extraction N°94 Vol 16 Bandung pp 334-340
- Ministerio de Agricultura y Riego. (2016). Palta Hass. Recuperado el 2018 de Julio de 2, de Sierra y Selva Exportadora:
<https://www.sierraexportadora.gob.pe/portfolio/palta-hass/>
- Ministerio de Produccion. (2018). Perú se posicionó como el segundo proveedor mundial de palta en 2017. Recuperado el 2 de Julio de 2018:
<http://ogeiee.produce.gob.pe/index.php/oficinageneral/noticias/item/773-peru-se-posiciono-como-el-segundo-proveedor-mundial-de-palta-en-2017>
- Salvador R, (2016) “Modelamiento de la relación calibre, humedad y contenido de aceite en palta HASS (*Persea americana*) de descarte por bajo calibre para la elaboración de pulpa”.
- Segovia F., et al. Industrial Crops and Products, Avocado seed: Modeling extraction of bioactive compounds Vol 85 (2016), España pp. 213-220
- SUNAT (.2018). Exportaciones de aguacate del año 2017 y 2018 (mayo). Recuperado el 07 de agosto de 2018, de Aguacate Hass:
<https://www.agrodataperu.com/2018/06/aguacate-paltas-peru-exportacion-2018-mayo.html>
- Salvador R, (2016) “Modelamiento de la relación calibre, humedad y contenido de aceite en palta HASS (*Persea americana*) de descarte por bajo calibre para la elaboración de pulpa”.

- Bressani R. (2009) Tendencias de la producción Tendencias de la producción y el comercio de palta y el comercio de palta en el mercado internacional y nacional. Guatemala
- HANALEI (2010). Información nutricional de la palta. Recuperado en: <http://www.hanaleisac.com/palta.html>
- AGRODATA PERU, La mejor información sobre Comercio Exterior Agropecuario del Perú. Recuperado en: <https://www.agrodataperu.com/category/exportaciones/aguacate-paltas-exportacion>
- Romero C. (2015) Tendencias de la producción Tendencias de la producción y el comercio de palta y el comercio de palta en el mercado internacional y nacional. MINAGRI
- Wang J. et al. (2008) Optimisation of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from wheat bran, pp 804-810.
- Hui Teng et al. (2010) Optimization of ultrasonic-assisted extraction of phenolic compounds from Chinese quince (*Chaenomeles sinensis*) by response surface methodology Vol 53, pp 618–625
- González R. et al. (2010). Antioxidant activity in banana peel extracts: Testing extraction conditions and related bioactive compounds. Vol. 119, pp.1030-1039.
- Segovia F. et al. (2014). Avocado Seeds: Extraction Optimization and Possible Use as Antioxidant in Food, pp. 439-454
- Rodríguez M. & Suarez L. (2019) Compuestos fenolicos y actividad antioxidante de *Clinopodium pilchellum* (Kunt) Govaerts “panisara” procedente del distrito de

- Cachicadán. Informe de Practicas Pre- profesionales para obtener el título Qumico Farmaceutico. Universidad Nacional de Trujillo. Perú.
- Huaman M. (2014) 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 del Centro. Peru
- Harris, C. (2007). Análisis químico cuantitativo. España: Reverte S.A
- Dueñas J. (2017), Optimización de las condiciones de extracción de compuestos fenólicos a partir de cáscara de uva variedad quebranta (Ica, Perú) empleando técnicas convencionales y extracción asistida por ultrasonido, Pontificia Universidad Católica del Perú, pp.31-38
- Quiros N. (2016) Obtencion de un extracto etanolico rico en polifenoles a partir de un subproducto del procesamiento industrial de mora. Universidad de Costa Rica. Costa Rica
- Paladino S. (2008) Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos contenidos en las semillas de la vid (*vitis vinifera* L.). Universidad Nacional de Cuyo. Argentina.
- Arranz S. (2010) Compuestos polifenólicos (extraíbles y no extraíbles) en alimentos de la dieta española: metodología para su determinación e identificación. Universidad Complutense de Madrid. España
- Naranajo I. (2016) Evaluación de dos métodos para la obtención de extractos con actividad antioxidante a partir de gulupa (*passiflora edulis* Sims.) con aplicación en productos mínimamente procesados. Universidad de la Salle. Bogota

- Medina N. (2017) Efecto del ultrasonido en la extracción y nanoencapsulación de polifenoles de limón persa (*Citrus latifolia*). Tesis para obtener el grado académico de Maestro en ciencia y tecnología. México
- Quiroz A. (2016) Obtención de un extracto etanólico rico en polifenoles a partir de un subproducto del procesamiento industrial de mora. Universidad de Costa Rica
- Tremocoldi M. et al. (2018) Exploration of avocado by-products as natural sources of bioactive compounds N°13 Vol 3 (2018) Brasil pp 1-12´
- Herrera N. et al. (2019) Efecto de la adición del extracto hidroetanólico de semilla de unguirahui (*Oenocarpus bataua* Mart.) en forma libre y microencapsulado sobre la calidad de la Galleta. Universidad Mayor de San Marcos. Perú
- Parniakov O. (2015) Application of Non-conventional Extraction Methods: Toward a Sustainable and Green Production of Valuable Compounds from Mushrooms. *Food Engineering Reviews* pp.214-234.
- Kosseva M. (2013). Funcional food and nutraceuticals derived from food industry wastes. Pp 103-120
- Rengifo P. & Carhuapoma M. (2014). Caracterización del aceite de la semilla de palta *Persea Americana* Mill. Var. Hass fuerte y medición de su actividad antioxidante. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Perú
- Bresani R. (2009). Para optar el Grado Académico de Doctor en Farmacia y Bioquímica (2009). Proyecto Fodecyt. Guatemala.
- Aymacaña A. (2018). Caracterización bromatológica de la cáscara de aguacate (*Persea americana*) y posterior extracción e identificación de la fracción con mayor actividad antimicrobiana y antioxidante. Universidad Central del Ecuador

- Choquecondo R. (2019). Evaluación del proceso oxidativo en el producto liofilizado y pulverizado de palta (persea americana mill) variedad fuerte, mediante la adición de antioxidantes y maltodextrina como coadyuvante de secado. Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa
- Antioxidante Venkatachalam, K., Rangasamy, R. and Krishnan, V. Total antioxidant activity and radical scavenging capacity of selected fruits and vegetables from South India. International Food Research Journal [Internet]. 2014 [citado 2017 Jul 10]. Vol 21(3): 1039-1043 (Brito, 1999).
- Rajendran P, et al, Antioxidants and human diseases. Clin Chim Acta [Internet]. 2014 [citado 2017 Jul 10]. Vol 436 (25): 332-347.
- Moreno C.(2017). compuestos fenólicos obtenidos del subproducto de persea americana mill. para la reducción de materia orgánica del efluente de una industria de curtido de tayassu pecari ubicada en el parque industrial de arequipa .Universidad de san Agustín de Arequipa.
- Bass .Q. (2014). obtención de extractos polifenólicos con actividad biológica a partir de harinas elaboradas con subproductos de limon italiano. centro de investigación y asistencia en tecnología y diseño del estado de jalisco, a. c.
- Salmerón M. (2014) Fracción indigestible, bioaccesibilidad in vitro y actividad antioxidante, de compuestos fenólicos de la cáscara de aguacate cv.. Cnetro de investigacion en Alimentacion y Desarrollo. Sonora

CAPÍTULO VII. ANEXOS

ANEXO 1: PROCEDIMIENTO PARA LA OBTENCIÓN DE HARINA DE CASCARA Y SEMILLA DE PALTA HASS



Figura 23. Recepción de material prima



Figura 24. Lavado y desinfección



Figura 25. Despulpado y extracción de semilla



Figura 26. cortado



Figura 27. Secado en bandejas



Figura 28. Molienda y tamizado

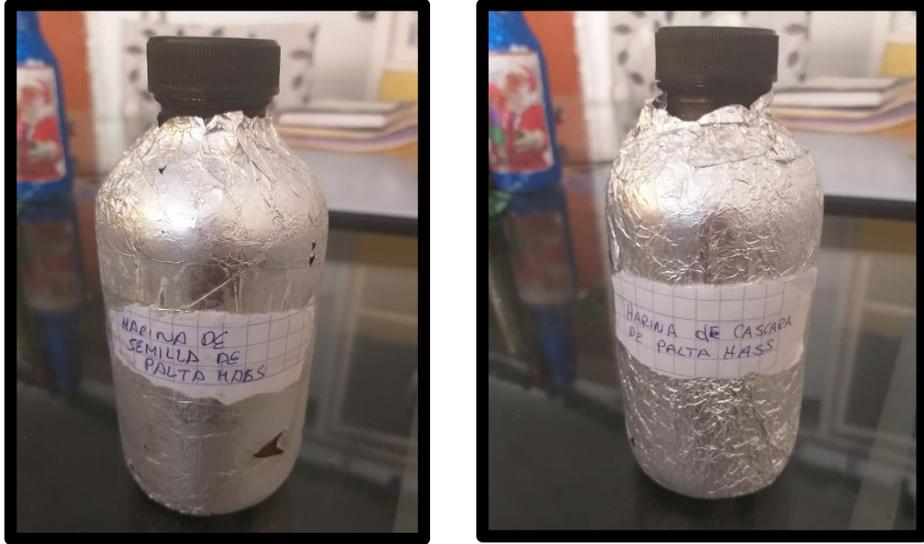


Figura 29. Envasado de muestras.

**ANEXO 2: ANALISIS DE COMPOSICIÓN QUÍMICA PROXIMAL DE
CÁSCARA Y SEMILLA DE PALTA HASS**

• **ANÁLISIS DE HUMEDAD**

La determinación del contenido de humedad se determinó por efecto de la Gravimetría en Estufa, según el Método AOAC, 930.15 (1990). Se basa en la diferencia de pesos de la muestra cuando es sometido a estufa a 105°C por 4 horas, hasta que el peso se haga constante

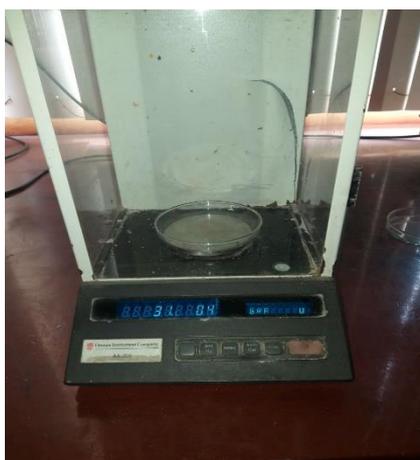


Figura 30. Pesado de placas

Tabla 24. Análisis de Humedad en Cascara de palta Hass

| N° | PLACA | MUESTRA | MUESTRA | | MUESTRA | %HUMEDAD |
|----|---------|---------|-------------------|----------------|---------|----------|
| | | | MUESTRA +PLACA | SECA +PLACA | | |
| 1 | 44.1775 | 10.0071 | 54.1846 | 53.6035 | 0.5811 | 5.807 |
| 2 | 44.5546 | 10.0149 | 54.5695 | 54.0019 | 0.5676 | 5.668 |
| 3 | 43.4397 | 10.0154 | 53.4551 | 52.8869 | 0.5682 | 5.673 |

Tabla 25. Análisis de Humedad en semilla de palta Hass

| N° | PLACA | MUESTRA | MUESTRA | | %HUMEDAD | |
|----|---------|---------|-------------------|----------------|----------|-------|
| | | | MUESTRA +PLACA | SECA +PLACA | | |
| 1 | 34.6429 | 10.0814 | 44.7243 | 43.8506 | 0.8737 | 8.666 |
| 2 | 33.0029 | 10.007 | 43.0099 | 42.1483 | 0.8616 | 8.610 |
| 3 | 35.8845 | 10.0359 | 45.9204 | 45.054 | 0.8664 | 8.633 |

- **ANÁLISIS DE CENIZA**

La determinación del contenido de cenizas se realizó utilizando la incineración en mufla, utilizando el Método de la AOAC 7009.14 (1984). La muestra seca es incinerada hasta su total carbonización. Luego es colocado a una mufla a 650°C por 4 hr en crisoles. Cada crisol es retirado de la mufla y enfriado en un desecador



Figura 31. Analisis de determinacion de ceniza

Tabla 26. Analisis de Ceniza en Cascara de palta Hass

| N° | MUESTRA | CRISOL | CRISOL+ CENIZA | %CENIZA |
|----|---------|----------|-------------------|---------|
| 1 | 3.0329 | 41.6466 | 41.714 | 2.2223 |
| 2 | 3.0523 | 46.0743 | 46.1375 | 2.0706 |
| 3 | 3.0426 | 43.86045 | 43.92575 | 2.1462 |

Tabla 27. Analisis de ceniza en semilla de palta Hass

| N° | MUESTRA | CRISOL | CRISOL+ CENIZA | %CENIZA |
|----|---------|----------|-------------------|---------|
| 1 | 3.0573 | 41.6691 | 41.7108 | 1.3639 |
| 2 | 3.0007 | 46.0764 | 46.1209 | 1.4830 |
| 3 | 3.029 | 43.87275 | 43.91585 | 1.4229 |

• **ANÁLISIS DE GRASA**

El porcentaje de grasa fue determinado por el Método Soxhelt, según la AOAC 930,19 (1990).

Tabla 28. Analisis de Grasa en Cascara de palta Hass

| N° | PESO DE MUESTRA | PESO CAPACHO | PESO DE VASO | PESO CAPACHO + MUESTRA | PESO VASO + MUESTRA | %GRASA |
|----|--------------------|-----------------|-----------------|------------------------------|---------------------------|-------------|
| 2 | 3.0055 | 0.8142 | 27.9918 | 3.8197 | 28.5057 | 17.09865247 |
| 3 | 3.0034 | 0.8712 | 27.6933 | 3.8746 | 28.2313 | 17.9130319 |
| 4 | 3.006 | 0.81 | 27.7154 | 3.8160 | 28.2219 | 16.84963407 |

Tabla 29. Analisis de Grasa en semilla de palta Hass

| N° | PESO DE MUESTRA | PESO CAPACHO | PESO DE VASO | PESO | PESO | %GRASA |
|----|-----------------|--------------|--------------|-------------------|----------------|-------------|
| | | | | CAPACHO + MUESTRA | VASO + MUESTRA | |
| 2 | 3.0119 | 0.8142 | 27.993 | 3.8261 | 28.0394 | 1.540555795 |
| 3 | 3.0568 | 0.8712 | 27.6951 | 3.9280 | 27.7425 | 1.550641193 |
| 4 | 3.0272 | 0.81 | 27.72 | 3.8372 | 27.7785 | 1.932478858 |

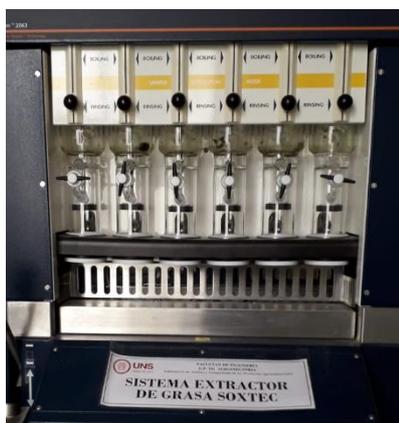


Figura 32. Determinacion de grasa

- **ANÁLISIS DE PROTEINA**

El contenido de Proteínas se determinó por el Método Kjeldahl, recomendado por la AOAC 930.19 (1990).



Figura 33. Analisis de proteina

Tabla 30. Analisis de Proteina en Cascara de palta Hass

| N° | MUESTRA (g) | MUESTRA (mg) | Gasto | % NITROGENO | %PROTEINA |
|----|----------------|-----------------|-------|----------------|-----------|
| 1 | 1.0167 | 1016.7 | 4.45 | 0.606184715 | 3.7887 |
| 2 | 1.02135 | 1021.35 | 4.585 | 0.621939051 | 3.8871 |
| 3 | 1.026 | 1026 | 4.72 | 0.637550585 | 3.9847 |

Tabla 31. Analisis de Proteina en semillade palta Hass

| N° | MUESTRA (g) | MUESTRA(mg) | Gasto | % NITROGENO | %PROTEINA |
|----|----------------|-------------|-------|----------------|-----------|
| 1 | 1.0173 | 1017.3 | 2.25 | 0.302913595 | 1.8932 |
| 2 | 1.01745 | 1017.45 | 2.275 | 0.30631063 | 1.9144 |
| 3 | 1.0176 | 1017.6 | 2.3 | 0.309706663 | 1.9357 |

- **ANÁLISIS DE FIBRA**

La determinación del contenido de Fibra Cruda se hizo según el Método NMX-F-090-1978. El fundamento del método es la ácida y alcalina de la muestra obteniéndose un residuo de fibra cruda y sales, que son colocadas en estufa a 105°C por 4 horas. Finalmente se coloca en la mufla hasta la calcinación.



Figura 34. Analisis de fibra

Tabla 32. Analisis de Fibra en cascara de palta Hass

| N° | MUESTRA(g) | PESO DE | | % FIBRA |
|----|------------|---------------------|--------------------|---------|
| | | RESIDUO SECO (g) | PESO CENIZA (g) | |
| 1 | 1.0052 | 0.8332 | 0.5579 | 27.3876 |
| 2 | 1.0084 | 0.8119 | 0.5312 | 27.8362 |
| 3 | 1.0028 | 0.7559 | 0.4856 | 26.9545 |

Tabla 33. Analisis de Fibra en semilla de palta Hass

| N° | MUESTRA(g) | PESO DE | | % FIBRA |
|----|------------|---------------------|--------------------|-------------|
| | | RESIDUO SECO (g) | PESO CENIZA (g) | |
| 1 | 1.0045 | 0.8032 | 0.6029 | 19.94026879 |
| 2 | 1.0145 | 0.6912 | 0.49112 | 19.72203056 |
| 3 | 1.0098 | 0.8759 | 0.6723 | 20.1624084 |

- **ANÁLISIS DE CARBOHIDRATOS**

El porcentaje de carbohidratos se dedujo a partir del contenido de humedad, ceniza, proteína, grasa y fibra.

$$\% \text{ Carbohidratos} = 100\% - (\%H + \%C + \%G + \%P + \%F)$$

ANEXO 3: EXTRACCION ASISTIDA POR ULTRASONIDO

- **SELECCIÓN DE CONCENTRACIÓN DE SOLVENTE**

- **SELECCIÓN DE CONCENTRACION DE SOLVENTE EN
CÁSCARA DE PALTA HASS**

Tabla 34. Resumen Estadístico de la Concentración de solvente en cascara (mgGAE/g)

| Grupos | Cuenta | Suma | Promedio | Varianza |
|--------|--------|-------------|-------------|------------|
| 0 | 3 | 171.3540378 | 57.11801261 | 19.2021844 |
| 0.1 | 3 | 227.3149918 | 75.77166394 | 3.41022655 |
| 0.2 | 3 | 276.059421 | 92.01980699 | 53.9112606 |
| 0.3 | 3 | 324.1968059 | 108.065602 | 31.2296994 |
| 0.4 | 3 | 379.5385369 | 126.5128456 | 9.03234621 |
| 0.5 | 3 | 389.5948043 | 129.8649348 | 7.0278348 |
| 0.6 | 3 | 363.7496976 | 121.2498992 | 15.5819037 |
| 0.7 | 3 | 230.7453145 | 76.91510484 | 4.39443555 |
| 0.8 | 3 | 217.8147768 | 72.60492559 | 44.2172527 |
| 0.9 | 3 | 165.3186232 | 55.10620774 | 7.86883792 |

Tabla 35. Análisis Estadístico (ANOVA) para la comparación de las concentraciones de solvente para los compuestos fenólicos de cascara

| Fuente | Suma de cuadrados | Grados de libertad | Promedio de los cuadrados | F | Probabilidad | Valor crítico para F |
|----------------------|-------------------|--------------------|---------------------------|-----------|--------------|----------------------|
| Entre grupos | 21543.7828 | 9 | 2393.753645 | 122.20761 | 1.70535E-15 | 2.392814108 |
| Dentro de los grupos | 391.7519635 | 20 | 19.58759817 | | | |
| Total | 21935.53477 | 29 | | | | |

➤ **SELECCIÓN DE CONCENTRACIÓN SOLVENTE EN SEMILLA SE PALTA HASS**

Tabla 36. Resumen Estadístico de la Concentración de solvente en semilla (mgGAE/g)

| Grupos | Cuenta | Suma | Promedio | Varianza |
|--------|--------|------------|------------|------------|
| 0 | 3 | 185.794553 | 61.9315175 | 36.4969174 |
| 0.1 | 3 | 272.065779 | 90.6885931 | 12.6610049 |
| 0.2 | 3 | 360.542955 | 120.180985 | 5.15668325 |
| 0.3 | 3 | 405.791092 | 135.263697 | 7.15297855 |
| 0.4 | 3 | 435.73999 | 145.246663 | 13.4889107 |
| 0.5 | 3 | 374.442497 | 124.814166 | 9.68806055 |
| 0.6 | 3 | 342.239651 | 114.079884 | 4.19395914 |
| 0.7 | 3 | 319.684684 | 106.561561 | 5.58613483 |
| 0.8 | 3 | 295.153745 | 98.3845818 | 57.2966392 |
| 0.9 | 3 | 271.888201 | 90.6294002 | 16.1717108 |

Tabla 37. Análisis Estadístico (ANOVA) para la comparación de las concentraciones de solvente para los compuestos fenólicos de semilla

| Origen de las variaciones | Suma de cuadrados | Grados de libertad | Promedio de los cuadrados | F | Probabilidad | Valor crítico para F |
|---------------------------|-------------------|--------------------|---------------------------|------------|--------------|----------------------|
| Entre grupos | 16232.6376 | 9 | 1803.6264 | 107.427135 | 5.9926E-15 | 2.39281411 |
| Dentro de los grupos | 335.785999 | 20 | 16.7892999 | | | |
| Total | 16568.4236 | 29 | | | | |

- **SELECCIÓN DE TEMPERATURA**

- **SELECCIÓN DE TEMPERATURA EN CÁSCARA DE PALTA HASS**

Tabla 38. Resumen Estadístico de la temperatura en cascara (mgGAE/g)

| Grupos | Cuenta | Suma | Promedio | Varianza |
|--------|--------|------------|------------|------------|
| 30 °C | 3 | 299.553918 | 99.8513059 | 32.0282704 |
| 40 °C | 3 | 349.598164 | 116.532721 | 26.0335523 |
| 50 °C | 3 | 376.952467 | 125.650822 | 14.567352 |
| 60 °C | 3 | 352.590705 | 117.530235 | 4.06245074 |
| 70 °C | 3 | 339.66882 | 113.22294 | 0.23094486 |

Tabla 39. Análisis Estadístico (ANOVA) para la comparación de las temperatura para los compuestos fenólicos de cascara

| Origen de las variaciones | Suma de cuadrados | Grados de libertad | Promedio de los cuadrados | F | Probabilidad | Valor crítico para F |
|---------------------------|-------------------|--------------------|---------------------------|------------|--------------|----------------------|
| Entre grupos | 1061.56095 | 4 | 265.390238 | 17.2504791 | 0.0001744 | 3.47804969 |
| Dentro de los grupos | 153.84514 | 10 | 15.384514 | | | |
| Total | 1215.40609 | 14 | | | | |

➤ **SELECCIÓN DE TEMPERATURA EN SEMILLA DE PALTA HASS**

Tabla 40. Resumen Estadístico de la temperatura en semilla (mgGAE/g)

| Grupos | Cuenta | Suma | Promedio | Varianza |
|--------|--------|------------|------------|------------|
| 30 °C | 3 | 353.310203 | 117.770068 | 3.03917254 |
| 40 °C | 3 | 372.197352 | 124.065784 | 18.0946593 |
| 50 °C | 3 | 416.674135 | 138.891378 | 79.3268346 |
| 60 °C | 3 | 358.081669 | 119.360556 | 38.6918606 |
| 70 °C | 3 | 335.114663 | 111.704888 | 4.88841987 |

Tabla 41. Análisis Estadístico (ANOVA) para la comparación de las temperatura para los compuestos fenólicos de semilla

| Origen de las variaciones | Suma de cuadrados | Grados de libertad | Promedio de los cuadrados | F | Probabilidad | Valor crítico para F |
|---------------------------|-------------------|--------------------|---------------------------|------------|--------------|----------------------|
| Entre grupos | 1259.37516 | 4 | 314.843791 | 10.9289684 | 0.00113351 | 3.47804969 |
| Dentro de los grupos | 288.081894 | 10 | 28.8081894 | | | |
| Total | 1547.45706 | 14 | | | | |

- **SELECCIÓN DE TIEMPO**

- **SELECCIÓN DE TIEMPO SOLVENTE EN CÁSCARA DE PALTA HASS**

Tabla 42. Resumen Estadístico del tiempo en cascara (mgGAE/g)

| Grupos | Cuenta | Suma | Promedio | Varianza |
|---------|--------|------------|------------|------------|
| 20 min | 3 | 312.764413 | 104.254804 | 10.9045026 |
| 40 min | 3 | 344.938216 | 114.979405 | 0.60929517 |
| 60 min | 3 | 372.42884 | 124.142947 | 6.60832068 |
| 80 min | 3 | 364.992161 | 121.664054 | 2.19895072 |
| 100 min | 3 | 342.843133 | 114.281044 | 2.24140623 |

Tabla 43. Análisis Estadístico (ANOVA) para la comparación del tiempo para los compuestos fenólicos de cascara

| Origen de las variaciones | Suma de cuadrados | Grados de libertad | Promedio de los cuadrados | F | Probabilidad | Valor crítico para F |
|---------------------------|-------------------|--------------------|---------------------------|------------|--------------|----------------------|
| Entre grupos | 720.729773 | 4 | 180.182443 | 39.9296709 | 4.0517E-06 | 3.47804969 |
| Dentro de los grupos | 45.1249508 | 10 | 4.51249508 | | | |
| Total | 765.854724 | 14 | | | | |

➤ **SELECCIÓN DE TIEMPO SOLVENTE EN SEMILLA DE PALTA HASS**

Tabla 44. Resumen Estadístico del tiempo en semilla (mgGAE/g)

| Grupos | Cuenta | Suma | Promedio | Varianza |
|--------|--------|------------|------------|------------|
| 20min | 3 | 369.157114 | 123.052371 | 28.8689419 |
| 40min | 3 | 390.202503 | 130.067501 | 24.6820268 |
| 60min | 3 | 427.447769 | 142.48259 | 1.01998676 |
| 80 min | 3 | 359.449323 | 119.816441 | 69.1489416 |
| 100min | 3 | 354.934862 | 118.311621 | 34.1140578 |

Tabla 45. Análisis Estadístico (ANOVA) para la comparación del tiempo para los compuestos fenólicos de semilla

| Origen de las variaciones | Suma de cuadrados | Grados de libertad | Promedio de los cuadrados | F | Probabilidad | Valor crítico para F |
|---------------------------|-------------------|--------------------|---------------------------|-----------|--------------|----------------------|
| Entre grupos | 1174.41919 | 4 | 293.604797 | 9.3010657 | 0.00210809 | 3.47804969 |
| Dentro de los grupos | 315.66791 | 10 | 31.566791 | | | |
| Total | 1490.0871 | 14 | | | | |

- **OBTENCIÓN DE EXTRACTOS DE RESIDUOS DE PALTA HASS**
 - **EXTRACTOS DE CÁSCARA DE PALTA HASS**



Figura 35. Extractos obtenidos a temperatura de 40 °C, con diferentes concentración de solvente y tiempo.



Figura 36. extractos obtenidos a temperatura de 50 °C, con diferentes concentración de solvente y tiempo.



Figura 37. Extractos obtenidos a temperatura de 60°C , a diferentes tiempo y concentración de solvente .

➤ **EXTRACTOS DE SEMILLA DE PALTA HASS**

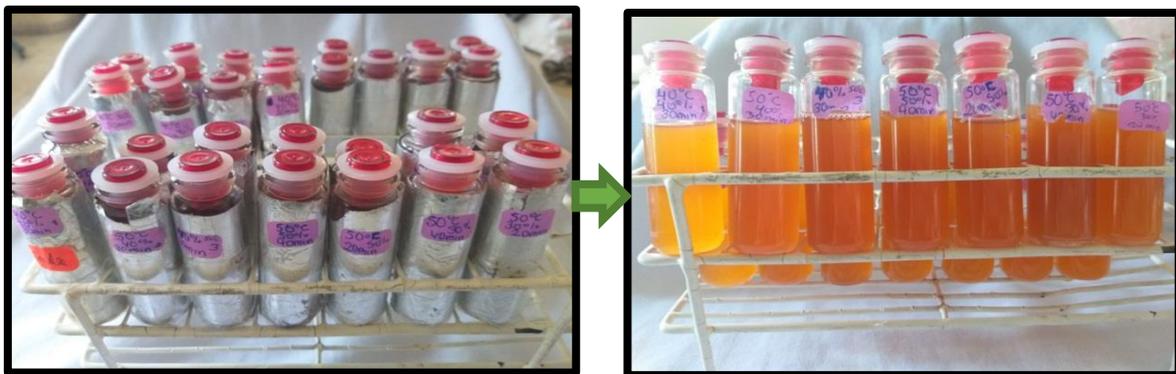


Figura 38. extractos obtenidos a temperatura de 50°C , a diferentes tiempo y concentración de solvente

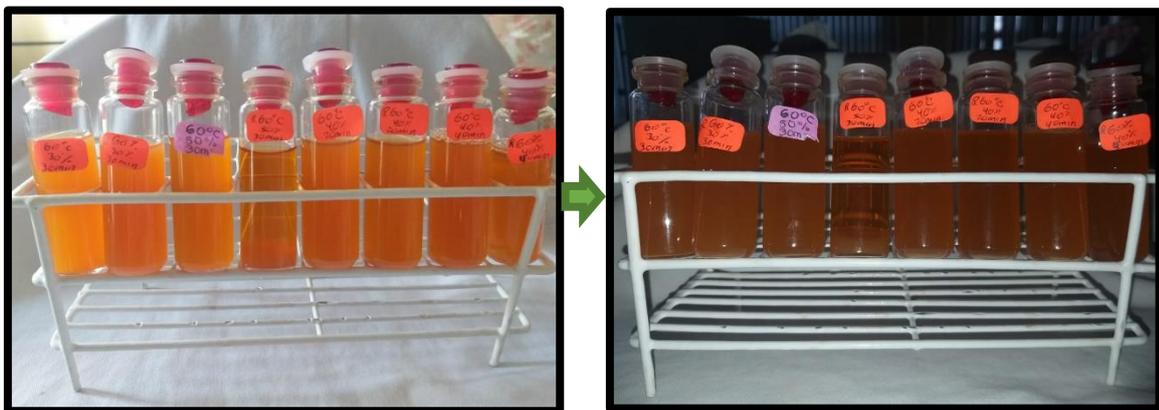


Figura 39. Extractos obtenidos a temperatura de 60°C, a diferentes tiempo y concentración de solvente

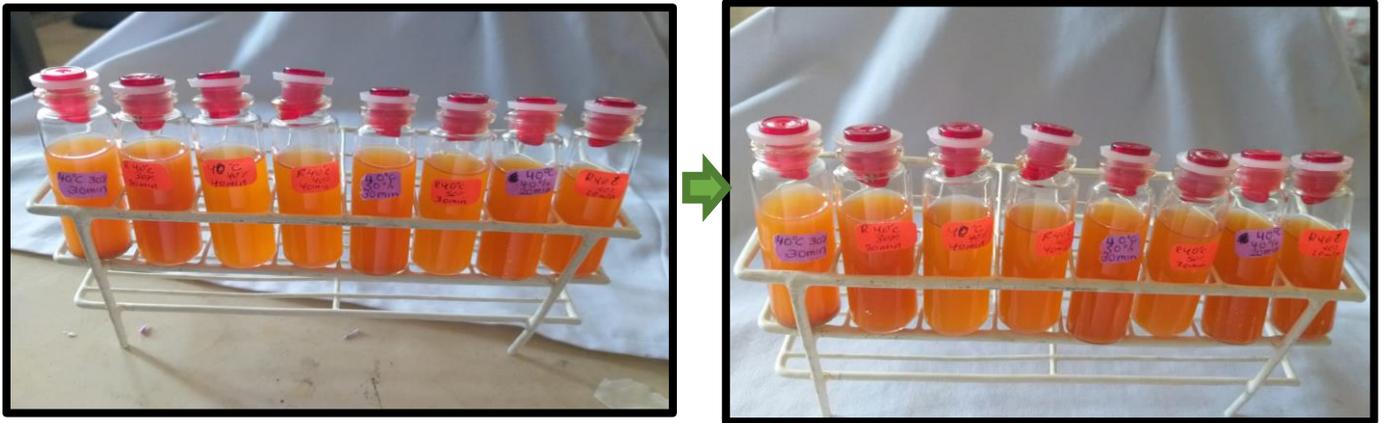


Figura 40. Extractos obtenidos a temperatura de 60°C, a diferentes tiempo y concentración de solvente

**ANEXO4: CONTENIDO DE COMPUESTOS FENÓLICOS EN CÁSCARA DE
PALTA HASS**

- **CONTENIDO DE COMPUESTOS FENOLICOS EN CASCARA DE
PALTA HASS**

Tabla 46. Corridas para la optimización de la extracción de compuestos fenólicos de
cascara de palta Hass

| TEMPERATURA (°C) | CONCENTRACION (%) | TIEMPO (MINUTOS) | Compuestos fenólicos (mg GAE/g) |
|---------------------|----------------------|---------------------|---------------------------------------|
| 50 | 50 | 60 | 116.5914709 |
| 50 | 50 | 60 | 126.7826346 |
| 50 | 50 | 60 | 125.3260585 |
| 60 | 50 | 80 | 105.0756517 |
| 60 | 60 | 60 | 100.3655726 |
| 50 | 60 | 80 | 101.9069791 |
| 50 | 40 | 80 | 100.1880612 |
| 60 | 40 | 60 | 106.5385016 |
| 50 | 60 | 40 | 92.21333875 |
| 60 | 50 | 40 | 116.6347899 |
| 40 | 60 | 60 | 99.26605566 |
| 40 | 50 | 80 | 118.2701678 |
| 50 | 40 | 40 | 106.4147414 |
| 40 | 50 | 40 | 90.74337078 |

| | | | |
|----|----|----|-------------|
| 40 | 40 | 60 | 98.9573429 |
| 50 | 50 | 60 | 121.6123932 |
| 50 | 50 | 60 | 125.3601878 |
| 50 | 50 | 60 | 124.1868569 |
| 60 | 50 | 80 | 110.8804258 |
| 60 | 60 | 60 | 95.67624392 |
| 50 | 60 | 80 | 104.0683698 |
| 50 | 40 | 80 | 100.3274841 |
| 60 | 40 | 60 | 104.7481545 |
| 50 | 60 | 40 | 96.63633546 |
| 60 | 50 | 40 | 112.452117 |
| 40 | 60 | 60 | 93.41413428 |
| 40 | 50 | 80 | 116.957224 |
| 50 | 40 | 40 | 102.1730914 |
| 40 | 50 | 40 | 100.8724777 |
| 40 | 40 | 60 | 99.56393164 |

- **CONTENIDO DE COMPUESTOS FENOLICOS EN SEMILLA DE PALTA HASS**

Tabla 47. Corridas para la optimización de la extracción de compuestos fenólicos de
senilla de palta Hass

| TEMPERATURA (°C) | CONCENTRACION (%) | TIEMPO (MINUTOS) | Compuestos fenólicos (mgGAE/g) |
|---------------------|----------------------|---------------------|--------------------------------------|
| 50 | 40 | 60 | 146.40 |
| 50 | 40 | 60 | 142.85 |
| 50 | 40 | 60 | 142.03 |
| 50 | 50 | 40 | 131.04 |
| 40 | 50 | 60 | 131.97 |
| 40 | 40 | 40 | 126.47 |
| 50 | 30 | 80 | 133.34 |
| 40 | 30 | 60 | 118.86 |
| 60 | 50 | 60 | 129.41 |
| 60 | 40 | 40 | 135.55 |
| 60 | 30 | 60 | 128.38 |
| 50 | 30 | 40 | 123.74 |
| 60 | 40 | 80 | 118.85 |
| 50 | 50 | 80 | 139.98 |
| 40 | 40 | 80 | 135.38 |
| 50 | 40 | 60 | 146.07 |
| 50 | 40 | 60 | 143.59 |

| | | | |
|----|----|----|--------|
| 50 | 40 | 60 | 145.53 |
| 50 | 50 | 40 | 133.36 |
| 40 | 50 | 60 | 128.68 |
| 40 | 40 | 40 | 121.84 |
| 50 | 30 | 80 | 131.94 |
| 40 | 30 | 60 | 124.08 |
| 60 | 50 | 60 | 131.37 |
| 60 | 40 | 40 | 134.20 |
| 60 | 30 | 60 | 127.20 |
| 50 | 30 | 40 | 120.28 |
| 60 | 40 | 80 | 123.46 |
| 50 | 50 | 80 | 137.00 |
| 40 | 40 | 80 | 139.34 |

ANEXO 5: DETERMINACIÓN DE ANTIOXIDANTES

- **DETERMINACIÓN DE LA CURVA ESTANDAR**

Tabla 48. Datos para la curva de calibrado de DPPH

| CONCENTRACION DE TROLOX (PPM) | ABSORVANCIA (517nm) |
|----------------------------------|------------------------|
| 2 | 0.804315 |
| 4 | 0.556395 |
| 6 | 0.320819 |
| 8 | 0.107594 |

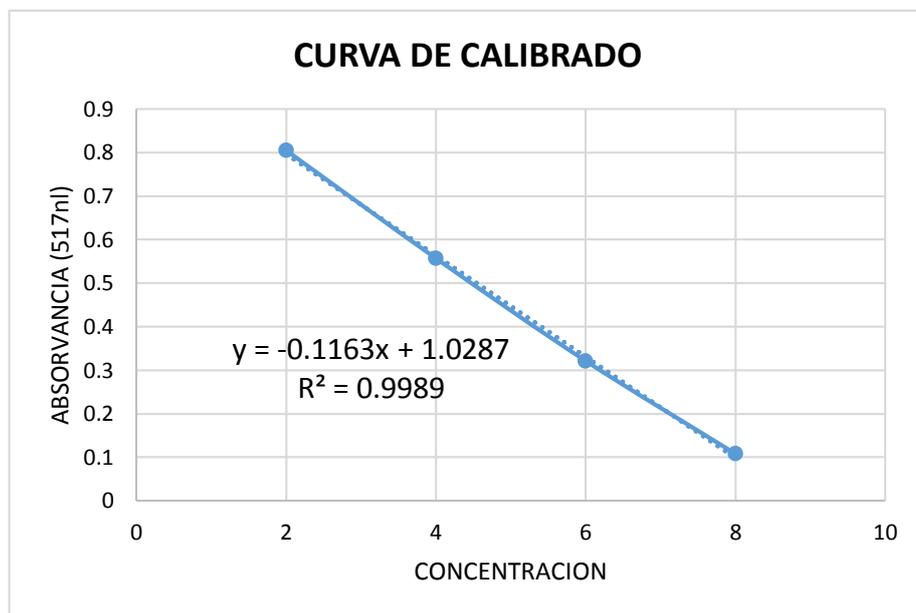


Figura 41. Curva de Calibrado de Trolox para DPPH

Tabla 49. Resultados de análisis de capacidad antioxidante en semilla y cascara de palta

Hass

| MUESTRA | ABSORVANCIA(517nm) | | | ANTIOXIDANTES ($\mu\text{mol TE/mg.ms}$) |
|---------|--------------------|-------------|-------------|---|
| | R1 | R2 | R3 | |
| CASCARA | 317.9735786 | 318.1739396 | 312.414608 | 316.1874 \pm 3.2688 |
| SEMILLA | 398.0411354 | 406.16632 | 404.6991575 | 402.9689 \pm 4.3301 |



Figura 42. Dilucion de muestras



Figura 43. se agrego el reactivo trolox, colocar al ultrasonido por 1 hora, luego agitar

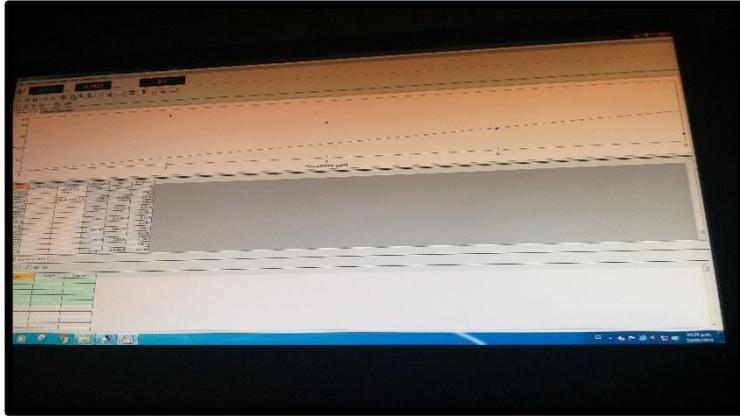


Figura 44. Curva de calibrado para DPPH