



Secretaría de Educación Pública



TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO

Instituto Tecnológico de Veracruz

Efecto del método de extracción sobre el perfil de metabolitos y la actividad antirradical de extractos de tejidos de diferentes variedades de aguacate

Tesis

Para obtener el grado de:

Maestro en Ciencias en Ingeniería Bioquímica

Presenta:

I.B.Q. Verónica Cuéllar Sánchez

Asesores:

Dr. Víctor José Robles Olvera

Dr. Madeleine Hidalgo Morales

Dr. Carlos Augusto Ledesma Escobar

H. Veracruz, Ver.

Diciembre 2017

“Año del Centenario de la Promulgación de la Constitución Política de los Estados Unidos Mexicanos”

H. Veracruz, Ver., 15/Diciembre/2017
Unidad de Investigación en Alimentos
Oficio: ITV/UNIDA/431/2017

**C. Verónica Cuellar Sánchez
PRESENTE**


Por este conducto se le comunica que su tesis de Maestría en Ciencias en Ingeniería Bioquímica titulada:

“Efecto del método de extracción sobre perfil de metabolitos y la actividad antirradical de extractos de tejidos de diferentes variedades de aguacate”

Fue aprobada en su totalidad en cuanto a formato y calidad del contenido a satisfacción del H. Jurado del examen, por lo que está Usted autorizado a editar la presentación definitiva del trabajo.

**ATENTAMENTE
Antorcha y Luz de Fuego Permanente**

**DR. JOSÉ ALBERTO MONROY RIVERA
JEFE DE LA UNIDA**


SRIA. DE EDUCACIÓN PÚBLICA
INSTITUTO TECNOLÓGICO
DE VERACRUZ
Unidad de Investigación
y Desarrollo en Alimentos

EL H. JURADO

**DR. VICTOR JOSÉ ROBLES OLVERA
PRESIDENTE**

**DRA. MADELEINE HIDALGO MORALES
SECRETARIO**

**DR. GERARDO VALERIO ALFARO
VOCAL 1**

**DR. HUGO SERGIO GARCÍA GALINDO
SUPLENTE**

JAMR*



Calz. Miguel Ángel de Quevedo 2779,
Col. Formando Hogar,
C.P. 91897, H. Veracruz, Ver.
Tel.: (229) 934 1500
www.itver.edu.mx



SEP

SECRETARÍA DE
EDUCACIÓN PÚBLICA




TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO
Instituto Tecnológico de Veracruz

“Año del Centenario de la Promulgación de la Constitución Política de los Estados Unidos Mexicanos”

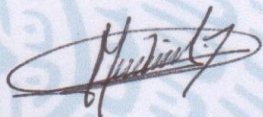
El presente trabajo de tesis titulado **“Efecto del método de extracción sobre perfil de metabolitos y la actividad antirradical de extractos de tejidos de diferentes variedades de aguacate”** presentado por el (la) C. **Verónica Cuellar Sánchez**, ha sido aprobado por su comité tutorial como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRA EN CIENCIAS EN INGENIERÍA BIOQUÍMICA

Asesor


Dr. Víctor José Robles Olvera


Asesor


Dra. Madeleine Hidalgo Morales

Revisor


Dr. Gerardo Valerio Alfaro

Revisor


Dr. Hugo Sergio García Galindo

JAMR*



Calz. Miguel Ángel de Quevedo 2779,
Col. Formando Hogar,
C.P. 91897, H. Veracruz, Ver.
Tel.: (229) 934 1500
www.itver.edu.mx



DEDICATORIA

A mis padres, por ser la guía y el camino para poder llegar hasta este punto de mi etapa profesional, que con su ejemplo, dedicación y palabras de aliento nunca bajaron los brazos para que yo tampoco lo haga aun cuando todo se complicaba. Por depositar su entera confianza en cada reto que se me presentaba sin dudar ni un solo momento en mi inteligencia y capacidad. Es por ustedes que soy lo que soy ahora.

A mis hermanos, por su paciencia y por confiar en mí, gracias por compartir sus vidas conmigo, siempre estaremos unidos.

A Carmen y Yemitzel, A estas mujeres tan bellas y especiales, que con ustedes he aprendido más sobre mí misma, gracias por aceptarme tal como soy, por permitirme ser mis compañeras en un viaje tan motivador, porque “caminando rápido ni se nota” y porque la vida es mejor probando nuevos vocabularios que se quedarán marcados por siempre en la vitrina del laboratorio.

A María del Mar, Azahara, Asunción y Laura, porque me recibieron con los brazos abiertos desde el primer día que llegue a España, haciendo que mi estancia fuera más alegre y duradera. Por sus días en convivencia en los cálidos días de Córdoba, por aquellas palabras de motivación y lucha incansable para que lograra mi objetivo, por todo su cariño y comprensión incondicional, Muchas gracias “Guapis”.

A Mariana, Mayra, Laura, Kalid, Naty, Alejandra, Karla, Mariana V. y Nayelli, gracias por su apoyo y cariño, por ser parte de una amistad duradera, gracias a cada una por su granito de arena para animarme en cada momento.

Arian, llegaste a mi vida como un gran consejero, llegaste como aquel que supo encontrar no solo las palabras sino toda una poesía para cada situación, para cada día.

Carlos, a pesar de la distancia y el tiempo, siempre me has acompañado. Me has enseñado que con paciencia y perseverancia todo puede ser posible. Agradezco cada conversación y cada momento que hemos vivido juntos, pero sobretodo agradezco a Dios por lo afortunada que soy de haberte conocido.

Y a todos los que siempre me apoyan, con los que también he compartido momentos buenos y malos. Los que siempre me ofrecieron una taza de café cada vez que nos volvíamos a ver. A los que siempre me daban un abrazo, me motivaban a seguir adelante y a pesar de la distancia siempre me han apoyado. A todos ustedes muchas gracias.

AGRADECIMIENTOS

La realización de esta tesis fue posible, al trabajo, desempeño, participación y coordinación de grandes personas de las cuales les tengo un gran cariño, respeto pero sobre todo que tengo una gran admiración.

Al Dr. **Víctor José Robles Olvera**, por aceptarme en su grupo de investigación, por su confianza puesta en mí para desarrollar este proyecto, por su incansable empeño para mi desarrollo tanto profesional como personal, por todas las palabras de motivación brindadas durante este periodo, ya que sin todo ello hubiera sido un trabajo muy difícil.

A la Dra. **Madeleine Hidalgo Morales**, mi gratitud y cariño por su paciencia, apoyo y profesionalidad. Le agradezco por su labor como mi co-asesora de tesis pero también como coordinadora de dicho posgrado, fomentando el conocimiento y trabajo en equipo a esta generación.

Al Dr. **Carlos A. Ledesma Escobar**, por sus asesorías y seguimiento en cada etapa del proyecto, por todos los comentarios constructivos, por su incansable dedicación y apoyo para que este proyecto se llevara a cabo.

A los miembros del comité revisor Dr. **Hugo Sergio García Galindo** y al Dr. **Gerardo Valerio Alfaro**, por sus incontables aportaciones que fueron de gran ayuda para la mejora continua de este trabajo y de mi desarrollo académico.

A la Dra. **María Dolores Luque de Castro** y al Dr. **Feliciano Priego Capote**, por aceptarme en su grupo de investigación, colaborando arduamente en este trabajo, por permitirme el uso de la instrumentación necesaria para la realización de dicho trabajo. Por hacerme sentir como en casa durante mi estancia en Córdoba, España, y por dejarme abierta las puertas a nuevas posibles investigaciones.

Al Dr. **Luis Mejía Macario**, por ser uno de mis mejores maestros en la Licenciatura, y que sigue contribuyendo a mi desarrollo profesional a pesar de ya no estar en su salón de clases.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (**CONACYT**), por haberme otorgado una beca para realizar mis estudios de Maestría.

RESUMEN

Cuéllar Sánchez, Verónica. M en C. en Ingeniería Bioquímica. Unidad de Investigación y Desarrollo en Alimentos. Instituto Tecnológico de Veracruz. Enero 2018. **Efecto del método de extracción sobre el perfil de metabolitos y la actividad antirradical de extractos de tejidos de diferentes variedades de aguacate.** Asesores: Dr. Víctor J. Robles Olvera, Dra. Madeleine Hidalgo Morales, Dr. Carlos A. Ledesma Escobar.

La industrialización del aguacate resulta en un aumento de residuos agroindustriales (epicarpio, tegumento y semilla) que contienen compuestos bioactivos cuya caracterización ha sido limitada. El objetivo de esta tesis fue evaluar el efecto de los métodos de extracción sobre el perfil de metabolitos y actividad antirradical en extractos de epicarpio, mesocarpio, semilla y tegumento de tres variedades de aguacate: aguacatillo (*Persea caerulea*), aguacate Hass (*Persea americana* L.) y aguacate fuerte (*Persea americana* var. Mill). Se seleccionó la relación adecuada de etanol/agua (50:50, 20:80 y 80:20 v/v) en función de la cantidad de sólidos extraídos por maceración a 45 °C de epicarpio (E), mesocarpio (M) y semilla (S) de aguacate Fuerte, a una relación 1:40 sólido:solvente, (p/v). Con la relación etanol:agua (80:20), se buscaron las condiciones óptimas para la extracción asistida con ultrasonidos (5, 10 y 15 min, 30, 50 y 70% amplitud de onda y 0.1, 0.5 y 0.9 s/s) y con microondas (5, 10 y 15 min y 20, 110 y 200 W de potencia); y por agitación (10, 20, 30 45, 60 y 120 min) con aguacate Hass. La optimización se realizó por superficie de respuesta a partir de las variables: sólidos totales, fenoles totales (Folin-Ciocalteu), actividad antirradical (DPPH y ABTS) y el área de 10 picos obtenidos por HPLC-DAD. Las condiciones óptimas fueron, para ultrasonidos: 3 min y 63% de amplitud para E; 6.2 min y 28% de amplitud para M y 3 min 70% de amplitud para S; para microondas: 10.9 min y 80 W; 15 min y 100 W y 15 min y 90 W para E, M y S, respectivamente; para agitación, los tiempos seleccionados fueron 45, 60 y 20 min para E, M y S respectivamente. A estas condiciones se realizaron extracciones de E, M, S y tegumento (T) de las tres variedades de aguacate. Los extractos fueron caracterizados mediante análisis global (LC-QTOF MS/MS). El mayor contenido de fenoles y de actividad antirradical se observó en extractos de semilla de aguacate fuerte y aguacatillo, principalmente en los obtenidos por ultrasonidos, y en extractos de epicarpio de aguacate Hass, independientemente del método de extracción. El análisis global de los extractos permitió obtener 2696 entidades moleculares que el análisis de componentes principales (PCA) diferenció entre las variedades de aguacate, sus tejidos y las técnicas de extracción. De 155 compuestos tentativamente identificados, 86 han sido previamente reportados. Se encontraron compuestos activos de interés comercial, sin embargo, es necesario realizar un análisis cuantitativo antes de proponer la utilización de los desechos como fuente de compuestos bioactivos.

ABSTRACT

Cuéllar Sánchez Verónica. MSc in Biochemical Engineering. Unidad de Investigación y Desarrollo en Alimentos del Instituto Tecnológico de Veracruz. Enero 2018. **“Effect of the extraction method on the profile of metabolites and the antiradical activity of extracts of tissues of different varieties of avocado”**. Asesores: Dr. Víctor J. Robles Olvera, Dra. Madeleine Hidalgo Morales, Dr. Carlos A. Ledesma Escobar.

Avocado industrialization generates large amounts of agro-industrial residues (epicarp, endocarp and seed) that contain bioactive compounds whose characterization limited. The aim of this work was to evaluate the effect of extraction methods on the profile of metabolites and antiradical activity in extracts of epicarp, mesocarp, seed and endocarp of three varieties of avocado: Aguacatillo (*Persea caerulea*), Hass avocado (*Persea americana* L.) and Fuerte avocado (*Persea americana* var. Mill). The appropriate ratio of ethanol/water (50:50, 20:80 and 80:20 v/v) was selected based on the amount of solids extracted by maceration at 45 °C of epicarp (E), mesocarp (M) and seed (S) of Fuerte avocado, at a 1:40 ratio solid/solvent, (w/v). With the ethanol:water ratio (80:20), the optimal extraction conditions for ultrasound-assisted (5, 10 and 15 min, 30, 50 and 70 % wave amplitude and 0.1, 0.5 and 0.9 s/s duty cycle), microwave-assisted (5, 10 and 15 min and 20, 110 and 200 W); and by agitation extraction (10, 20, 30, 45, 60 and 120 min) were sought with Hass avocado tissue. The optimization was performed by a response surface model that included variables: total solids, total phenols (Folin-Ciocalteu), antiradical activity (DPPH and ABTS) and the area of 10 peaks obtained by HPLC-DAD. The optimal conditions were, for ultrasound: 3 min and 63 % amplitude for E; 6.2 min and 28 % amplitude for M and 3 min 70 % amplitude for S; for microwave: 10.9 min and 80 W; 15 min and 100 W and 15 min and 90 W for E, M and S, respectively; for agitation, the selected times were 45, 60 and 20 min for E, M and S respectively. At these conditions, extractions of E, M, S and tegument (T) of the three varieties of avocado were made. The extracts were characterized by global analysis (LC-QTOF MS / MS). The highest content of phenols and antiradical activity was observed in extracts of Fuerte avocado seed and Aguacatillo, mainly in those obtained by ultrasound, and in Hass avocado epicarp extracts, irrespective of the extraction method. The global analysis of the extracts allowed obtaining 2696 molecular entities that the analysis of main components (PCA) differentiated between avocado varieties, tissues and extraction techniques. From 155 tentatively identified compounds, 86 had been previously reported. Active compounds of commercial interest were found; however, it is necessary to perform a quantitative analysis before proposing the use of avocado wastes as a source of bioactive compounds.

CONTENIDO

DEDICATORIA	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
RESUMEN	IV
ABSTRACT.....	V
CONTENIDO.....	VI
LISTA DE FIGURAS.....	X
LISTA DE TABLAS	XIII
1 INTRODUCCIÓN.....	1
2 ANTECEDENTES	2
2.1 ESTRUCTURA DEL AGUACATE.....	2
2.2 VARIEDADES DE AGUACATE	3
2.3 INFORMACIÓN NUTRIMENTAL DEL AGUACATE	4
2.4 PRINCIPALES COMPUESTOS BIOACTIVOS PRESENTES EN EL AGUACATE.....	5
2.4.1 Lípidos.....	5
2.4.2 Flavonoides.....	6
2.4.3 Ácidos fenólicos	7
2.5 PRINCIPALES FITOQUÍMICOS BIOACTIVOS PRESENTES EN FRACCIONES MORFOLÓGICAS DE AGUACATE.....	8
2.5.1 Epicarpio	8
2.5.2 Mesocarpio.....	9
2.5.3 Semilla	10
2.5.4 Tegumento.....	11
2.6 EFECTOS DEL CONSUMO DE AGUACATE EN LA SALUD HUMANA	12
2.7 EXTRACCIÓN DE COMPUESTOS BIOACTIVOS	13
2.7.1 Extracción sólido- líquido con agitación	13
2.7.2 Extracción asistida por microondas.....	14
2.7.3 Extracción asistida por ultrasonidos (UAE)	14
2.8 ACTIVIDAD ANTIRRADICAL Y EL CONTENIDO DE FENOLES.....	15
2.8.1 Actividad antirradical	15
2.8.1.1 Actividad antirradical DPPH.....	15
2.8.1.2 Actividad antirradical ABTS	16

2.8.2	Contenido total de fenoles por el método de Folin-Ciocalteu.....	18
2.9	METABOLÓMICA.....	19
2.9.1	Aspectos del análisis metabolómico	20
2.9.2	Aplicaciones de la Metabolómica	20
2.9.3	Espectrometría de masas (MS).....	21
2.9.4	Análisis de datos en metabolómica.....	21
3	OBJETIVOS	23
3.1	OBJETIVO GENERAL	23
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	23
4	MATERIALES Y MÉTODOS	24
4.1	MATERIA PRIMA	25
4.2	REACTIVOS Y SOLVENTES.....	26
4.3	PREPARACIÓN DE LA MUESTRA	26
4.4	EFFECTO DE LA PROPORCIÓN ETANOL:AGUA	27
4.5	OPTIMIZACIÓN DE EXTRACCIONES	27
4.5.1	Extracción con agitación	27
4.5.2	Extracción asistida por ultrasonidos.....	28
4.5.3	Extracción asistida por microondas.....	28
4.6	CONTENIDO DE SÓLIDOS TOTALES.....	30
4.7	CONTENIDO TOTAL DE FENOLES	30
4.8	DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIRRADICAL	30
4.8.1	Medición de la actividad antirradical con DPPH.....	30
4.8.2	Análisis de la actividad antirradical por el método ABTS	31
4.9	OPTIMIZACIÓN DE RESPUESTAS MÚLTIPLES	32
4.10	SEPARACIÓN Y ANÁLISIS DE METABOLITOS	33
4.10.1	Cromatografía de líquidos de alta resolución acoplada a un detector de diodos en fila (HPLC-DAD)	33
4.10.2	Cromatografía de líquidos de alta resolución acoplada a detector híbrido cuadrupolo-tiempo de vuelo de alta resolución (HPLC-QTOF-MS/MS) .	33
4.11	ANÁLISIS NO ORIENTADO (GLOBAL Y HUELLA DACTILAR).....	34
4.12	IDENTIFICACIÓN DE METABOLITOS.....	34
5	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	36
5.1	EFFECTO DEL TIEMPO DE EXTRACCIÓN CON AGITACIÓN.....	37
5.2	EFFECTO DE LA PROPORCIÓN ETANOL:AGUA SOBRE LOS SÓLIDOS EXTRAÍDOS	38
5.3	OPTIMIZACIÓN DE LAS EXTRACCIONES ASISTIDAS CON ULTRASONIDOS	40
5.3.1	Optimización de la extracción de epicarpio de aguacate asistida con ultrasonidos	40
5.3.2	Optimización de la extracción de mesocarpio de aguacate asistida con ultrasonidos.....	43

5.3.3	Optimización de la extracción de semilla de aguacate asistida con ultrasonidos	46
5.4	OPTIMIZACIÓN DE LAS EXTRACCIONES ASISTIDAS CON MICROONDAS	50
5.4.1	Optimización de la extracción de epicarpio de aguacate asistida con microondas	50
5.4.2	Optimización de la extracción de mesocarpio de aguacate asistida con microondas	52
5.4.3	Optimización de la extracción de semilla de aguacate asistida con microondas..	53
5.5	EXTRACCIÓN DE FRACCIONES FISIOLÓGICAS DE AGUACATE POR MACERACIÓN CON AGITACIÓN	56
5.6	EFFECTO DEL MÉTODO DE EXTRACCIÓN EN LAS FRACCIONES MORFOLÓGICAS DE LAS TRES VARIEDADES DE AGUACATE.	59
5.6.1	Efecto del método de extracción sobre las variables de respuesta: aguacate var. Fuerte.....	59
5.6.2	Efecto del método de extracción sobre las variables de respuesta: aguacate var. Hass.....	61
5.6.3	Efecto del método de extracción sobre las variables de respuesta: aguacatillo.....	64
5.7	COMPARACIÓN DE LOS MÉTODOS DE EXTRACCIÓN MEDIANTE ANÁLISIS GLOBAL ..	66
5.7.1	Efecto del método de extracción y del tipo de tejido sobre los compuestos extraídos de las tres variedades.....	66
5.7.2	Efecto del método de extracción sobre los compuestos extraídos en aguacate Fuerte.....	68
5.7.3	Efecto del método de extracción sobre los compuestos extraídos en aguacate Hass.....	71
5.7.4	Efecto del método de extracción sobre los compuestos extraídos en aguacatillo.....	71
5.7.5	Efecto de la variedad de aguacate y del tipo de tejido sobre los compuestos extraídos con ultrasonidos.....	74
5.7.6	Efecto de la variedad de aguacate y del tipo de tejido sobre los compuestos extraídos con microondas.....	76
5.7.7	Efecto de la variedad de aguacate y del tipo de tejido sobre los compuestos extraídos con agitación.....	78
5.8	CARACTERIZACIÓN QUÍMICA DE LOS EXTRACTOS DE AGUACATE MEDIANTE CROMATOGRAFÍA DE LÍQUIDOS ACOPLADA A ESPECTROMETRÍA DE MASAS DE ALTA RESOLUCIÓN	80
5.8.1	Identificación de los metabolitos mediante espectros MS/MS.....	80
6	CONCLUSIONES.....	86
7	BIBLIOGRAFÍA.....	88

8 ANEXOS.....	97
ANEXO 1: CURVAS DE CALIBRACIÓN	97
ANEXO 2: CORRELACIONES DE LAS VARIABLES DE OPTIMIZACIÓN DE LA EXTRACCIÓN DE EPICARPIO, MESOCARPIO Y SEMILLA DE AGUACATE VAR. HASS ASISTIDA CON ULTRASONIDOS.....	106
ANEXO 3: CROMATOGRAMAS DE EXTRACTOS DE DIFERENTES FRACCIONES MORFOLÓGICAS OBTENIDOS CON LOS DIFERENTES MÉTODOS DE EXTRACCIÓN	109
ANEXO 4: SUPERFICIES DE RESPUESTA DE LAS VARIABLES DEPENDIENTES DE LA EXTRACCIÓN DE FRACCIONES MORFOLÓGICAS DE AGUACATE HASS ASISTIDA CON ULTRASONIDOS.....	113
ANEXO 5: CORRELACIONES DE LAS VARIABLES DE OPTIMIZACIÓN DE LA EXTRACCIÓN DE EPICARPIO, MESOCARPIO Y SEMILLA DE AGUACATE VAR. HASS ASISTIDA CON MICROONDAS	116
ANEXO 6: SUPERFICIES DE RESPUESTA DE LAS VARIABLES DEPENDIENTES DE LA EXTRACCIÓN DE FRACCIONES MORFOLÓGICAS DE AGUACATE VAR. HASS ASISTIDA CON MICROONDAS.	119
ANEXO 7: COMPUESTOS TENTATIVAMENTE IDENTIFICADOS EN LAS MUESTRAS DE AGUACATE	122

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 2-1 Estructura general del aguacate.....	3
FIGURA 2-2 Estructura del DPPH antes y después de la reacción con el antioxidante. (Alam <i>et al.</i> , 2012).....	16
FIGURA 2-3 Estructura del ABTS•+ antes y después de la reacción con el antioxidante (Zuleta <i>et al.</i> , 2009).....	17
FIGURA 2-4 Reacción química por el método de Folin-Ciocalteu.....	18
FIGURA 4-1 Diagrama de la metodología general.....	25
FIGURA 4-2 Comparación del espectro MS/MS de Procianidina B2 obtenido a 40 eV de energía de colisión. (A) Espectro del programa Qualitative Analysis B.07.00 y (B) Espectro de la base de datos Metlin.	35
FIGURA 5-1 Evolución de los sólidos extraíbles totales durante la extracción por maceración con agitación en etanol:agua (80:20) de mesocarpio y semilla de aguacate variedad Fuerte.....	38
FIGURA 5-2 Efecto de la proporción de etanol:agua (◆ 50:50, ■ 20:80, ▲ 80:20 v/v) sobre la evolución de los sólidos extraíbles totales durante la extracción con agitación de epicarpio, mesocarpio y semilla de aguacate var. Fuerte.	39
FIGURA 5-3 Superficie de respuesta del estudio de deseabilidad para la extracción asistida con ultrasonidos de epicarpio de aguacate var. Hass.....	43
FIGURA 5-4 Superficie de respuesta del estudio de deseabilidad para la extracción asistida con ultrasonidos de mesocarpio de aguacate var. Hass.....	46
FIGURA 5-5 Superficie de respuesta del estudio de deseabilidad para la extracción asistida con ultrasonidos de semilla de aguacate var. Hass.	49
FIGURA 5-6 Superficie de respuesta del estudio de deseabilidad para la extracción asistida con microondas de epicarpio de aguacate var. Hass.....	52
FIGURA 5-7 Superficie de respuesta del estudio de deseabilidad para la extracción asistida con microondas de mesocarpio de aguacate var. Hass.....	54
FIGURA 5-8 Superficie de respuesta del estudio de deseabilidad para la extracción asistida con microondas de semilla de aguacate var. Hass.....	55
FIGURA 5-9 Efecto del tiempo de extracción de epicarpio (A), mesocarpio (B) y semilla de aguacate (C) var. Hass por maceración con agitación en etanol:agua (80:20) sobre el valor de DPPH en los extractos ("X" en los extractos HSD").....	58
FIGURA 5-10 Efecto del método de extracción (Us: ultrasonidos, Mw: microondas y Ag: agitación), del tipo de tejido (A: epicarpio, B: mesocarpio, C: semilla y D: tegumento) y de la variedad (Hass, Fuerte y Aguacatillo) sobre los compuestos extraídos.....	67
FIGURA 5-11 Efecto del método de extracción (Us: ultrasonidos, Mw: microondas y Ag: agitación) y del tipo de tejido (A: epicarpio, B: mesocarpio, C: semilla y D: tegumento) de aguacate var. Fuerte, sobre los compuestos extraídos.....	70

FIGURA 5-12 Efecto del método de extracción (Us: ultrasonidos, Mw: microondas y Ag: agitación) y del tipo de tejido (A: epicarpio, B: mesocarpio, C: semilla y D: tegumento) de aguacate var. Hass, sobre los compuestos extraídos.....	72
FIGURA 5-13 Efecto del método de extracción (Us: ultrasonidos, Mw: microondas y Ag: agitación) y del tipo de tejido (A: epicarpio, B: mesocarpio, C: semilla y D: tegumento) de aguacatillo, sobre los compuestos extraídos.....	73
FIGURA 5-14 Efecto de la variedad de aguacate (Hass, Fuerte y Aguacatillo) y del tipo de tejido (A: epicarpio, B: mesocarpio, C: semilla y D: tegumento) sobre los compuestos extraídos con la asistencia de ultrasonidos.....	75
FIGURA 5-15 Efecto de la variedad de aguacate (Hass, Fuerte y Aguacatillo) y del tipo de tejido (A: epicarpio, B: mesocarpio, C: semilla y D: tegumento) sobre los compuestos extraídos con la asistencia de microondas.	77
FIGURA 5-16 Efecto de la variedad de aguacate (Hass, Fuerte y Aguacatillo) y del tipo de tejido (A: epicarpio, B: mesocarpio, C: semilla y D: tegumento) sobre los compuestos extraídos por agitación.....	79
FIGURA 8-1 Curvas de calibración para la cuantificación de fenoles totales en extractos de (A) epicarpio, (B) semilla y (C) mesocarpio de aguacate var. Hass obtenidos con asistencia de ultrasonidos.....	97
FIGURA 8-2 Curvas de calibración para la cuantificación de actividad antirradical (DPPH) en extractos de (A) epicarpio, (B) semilla y (C) mesocarpio de aguacate var. Hass obtenidos con asistencia de ultrasonidos.....	98
FIGURA 8-3 Curvas de calibración para la cuantificación de actividad antirradical (ABTS) en extractos de (A) epicarpio, (B) semilla y (C) mesocarpio de aguacate var. Hass obtenidos con asistencia de ultrasonidos.....	99
FIGURA 8-4 Curvas de calibración para la cuantificación de compuestos fenólicos en extractos de (A) epicarpio, (B) semilla y (C) mesocarpio de aguacate var. Hass obtenidos con asistencia de microondas.....	100
FIGURA 8-5 Curvas de calibración para la cuantificación de actividad antirradical DPPH en extractos de (A) epicarpio, (B) semilla y (C) mesocarpio de aguacate var. Hass obtenidos con asistencia de microondas.....	101
FIGURA 8-6 Curvas de calibración para la cuantificación de actividad antirradical ABTS en extractos de (A) epicarpio, (B) semilla y (C) mesocarpio de aguacate var. Hass obtenidos con asistencia de microondas.....	102
FIGURA 8-7 Curvas de calibración para la cuantificación de compuestos fenólicos en extractos de (A) epicarpio, (B) semilla y (C) mesocarpio de aguacate var. Hass obtenidos por agitación.	103
FIGURA 8-8 Curvas de calibración para la cuantificación de actividad antirradical DPPH en extractos de (A) epicarpio, (B) semilla y (C) mesocarpio de aguacate var. Hass obtenidos por agitación.	104
FIGURA 8-9 Curvas de calibración para la cuantificación de actividad antirradical ABTS en extractos de (A) epicarpio, (B) semilla y (C) mesocarpio de aguacate var. Hass obtenidos por agitación.	105

FIGURA 8-10 Cromatograma de extracto de epicarpio de aguacate Hass obtenido por asistencia con ultrasonidos durante 10 min con 10 % de amplitud y ciclo útil de 0.5 s/s.....	109
FIGURA 8-11 Cromatograma de extracto de mesocarpio de aguacate Hass obtenido por asistencia con ultrasonidos durante 10 min con 10 % de amplitud y ciclo útil de 0.5 s/s.....	109
FIGURA 8-12 Cromatograma de extracto de semilla de aguacate Hass obtenido por asistencia con ultrasonidos durante 10 min con 10 % de amplitud y ciclo útil de 0.5 s/s.....	110
FIGURA 8-13 Cromatograma de extracto de epicarpio de aguacate var. Hass obtenido por asistencia con microondas con 10 ciclos de irradiación y 55 W de potencia.....	110
FIGURA 8-14 Cromatograma de extracto de semilla de aguacate var. Hass obtenido por asistencia con microondas con 10 ciclos de irradiación y 55 W de potencia. ...	111
FIGURA 8-15 Cromatograma de extracto de epicarpio de aguacate var. Hass obtenido por agitación durante 10 min.	111
FIGURA 8-16 Cromatograma de extracto de semilla de aguacate var. Hass obtenido por agitación durante 10 min.....	112
FIGURA 8-17 Cromatograma de extracto de mesocarpio de aguacate var. Hass obtenido por agitación durante 10 min.	112
FIGURA 8-18 Efecto de las variables de extracción asistida con ultrasonidos de epicarpio de aguacate var. Hass sobre las variables de estudio.....	113
FIGURA 8-19 Efecto de las variables de extracción asistida con ultrasonidos de mesocarpio de aguacate var. Hass sobre las variables de estudio.....	114
FIGURA 8-20 Efecto de las variables de extracción asistida con ultrasonidos de semilla de aguacate var. Hass sobre las variables de estudio.	115
FIGURA 8-21 Efecto de las variables de extracción asistida con microondas de epicarpio de aguacate var. Hass sobre las variables de estudio.....	119
FIGURA 8-22 Efecto de las variables de extracción asistida con microondas de mesocarpio de aguacate var. Hass sobre las variables de estudio.....	120
FIGURA 8-23 Efecto de las variables de extracción asistida con microondas de semilla de aguacate var. Hass sobre las variables de estudio.	121

LISTA DE TABLAS

TABLA 2-1: Características de algunas variedades del aguacate.....	4
TABLA 2-2: Información nutrimental de aguacate Hass y Fuerte.....	4
TABLA 4-1: Reactivos y solventes empleados para la extracción y caracterización de antioxidantes fenólicos a partir de las fracciones morfológicas de aguacate.	25
TABLA 4-2: Diseño de experimentos Box-Behnken para estudiar el efecto de las condiciones de extracción de epicarpio, mesocarpio, tegumento y semilla de aguacates de la variedad Hass sobre la concentración de compuestos funcionales extraídos.....	29
TABLA 5-1: Peso de las muestras frescas de las tres variedades en estudio.....	36
TABLA 5-2: Porcentaje de humedad de las fracciones de aguacate de las variedades estudiadas.....	37
TABLA 5-3: Coeficientes de regresión de las 14 variables de respuesta seleccionadas para la optimización de la extracción de epicarpio de aguacate var. Hass asistida con ultrasonidos.....	41
TABLA 5-4: Coeficientes de regresión de las 10 variables de respuesta seleccionadas para la optimización de la extracción de mesocarpio de aguacate var. Hass asistida con ultrasonidos.....	43
TABLA 5-5: Coeficientes de regresión de las 14 variables de respuesta seleccionadas para la optimización de la extracción de semilla de aguacate var. Hass asistida con ultrasonidos.....	47
TABLA 5-6: Respuestas estimadas para los valores ideales de extracción con ultrasonidos de las diferentes fracciones morfológicas de aguacate.....	50
TABLA 5-7: Coeficientes de regresión de las 9 variables de respuesta seleccionadas para la optimización de la extracción de epicarpio de aguacate var. Hass asistida con microondas.....	51
TABLA 5-8: Coeficientes de regresión de las 11 variables de respuesta seleccionadas para la optimización de la extracción de mesocarpio de aguacate var. Hass asistida con microondas.....	53
TABLA 5-9: Coeficientes de regresión de las 12 variables de respuesta estudiadas para la optimización de la extracción de semilla de aguacate var. Hass asistida con microondas.....	54
TABLA 5-10: Respuestas estimadas para los valores ideales de extracción con microondas de las diferentes fracciones morfológicas de aguacate.	56
TABLA 5-11: Tiempo de extracción (por maceración con agitación en etanol:agua 80:20) más adecuado para cada fracción morfológica de aguacate.....	58
TABLA 5-12: Efecto del método de extracción con etanol:agua (80:20) sobre el contenido de sólidos y fenoles totales y actividad antirradical, de extractos de fracciones morfológicas de aguacate var. Fuerte.....	62
TABLA 5-13: Efecto del método de extracción con etanol:agua (80:20) sobre el contenido de sólidos y fenoles totales y actividad antirradical, de extractos de fracciones morfológicas de aguacate var. Hass.....	63

TABLA 5-14: Efecto del método de extracción con etanol:agua (80:20) sobre el contenido de sólidos y fenoles totales y actividad antirradical, de extractos de fracciones morfológicas de aguacatillo.....	65
TABLA 5-15: Compuestos encontrados en las tres variedades de las cuatro fracciones morfológicas con los tres métodos de extracción.	82
Tabla 5-16: Compuestos característicos de las variedades de aguacate.	83
TABLA 8-1: Correlaciones de las variables de optimización de la extracción de epicarpio de aguacate var. Hass asistida con ultrasonidos.....	106
TABLA 8-2: Correlaciones de las variables de optimización de la extracción de mesocarpio de aguacate var. Hass asistida con ultrasonidos.....	107
TABLA 8-3: Correlaciones de las variables de optimización de la extracción de semilla de aguacate var. Hass asistida con ultrasonidos.	108
TABLA 8-4: Correlaciones de las variables de optimización de la extracción de epicarpio de aguacate var. Hass asistida con microondas.....	116
TABLA 8-5: Correlaciones de las variables de optimización de la extracción de mesocarpio de aguacate var. Hass asistida con microondas.....	117
TABLA 8-6: Correlaciones de las variables de optimización de la extracción de semilla de aguacate var. Hass asistida con microondas.	118
TABLA 8-7: Compuestos tentativamente identificados en las tres variedades de aguacates obtenidos con los tres métodos de extracción.	122
TABLA 8-11: Descripción de los compuestos identificados.	128

1 INTRODUCCIÓN

El aguacate es un fruto de importancia comercial, existen 46 países productores entre los cuales, México ocupó el primer lugar de la producción en el periodo 2010-2013 con 1,467,837 ton (FAOSTAT, 2015). Fuentes del sector de aguacate indican que aproximadamente el 10 % de la producción de aguacate es industrializado como aceite (Requejo, 1999). El aguacate es rico en vitaminas A, B, C y E, ácidos grasos monoinsaturados y otros compuestos bioactivos (Buelvas-Salgado *et al.*, 2012). Los compuestos bioactivos no sólo se encuentran en la parte comestible del fruto, sino también en la cáscara y en la semilla. La industrialización del aguacate genera una gran cantidad de residuos cuyo empleo es limitado, recientemente se ha motivado su estudio como fuente de metabolitos de interés para la industria alimentaria, como es el caso de los compuestos con actividad antioxidante. Sin embargo, no se tiene un conocimiento amplio del contenido de compuestos bioactivos en los residuos, ni de su contenido en variedades de aguacate no industrializadas como el aguacatillo, que podrían adquirir importancia industrial.

A la fecha, tampoco se han encontrado estudios comparativos sobre métodos de extracción y los metabolitos extraídos. En este contexto, el empleo de energías auxiliares para la extracción de compuestos en fracciones morfológicas de aguacate ha sido limitado.

Este trabajo tuvo por objetivo evaluar el efecto de diferentes métodos de extracción (extracción asistida con ultrasonidos, extracción asistida con microondas y extracción por agitación) sobre la actividad antirradical (DPPH y ABTS) y el perfil de metabolitos (LC-QTOF-MS/MS) de extractos de fracciones morfológicas (epicarpio, mesocarpio, tegumento y semilla) de aguacatillo (*Persea caerulea*), aguacate Hass (*Persea americana* L.) y aguacate Fuerte (*Persea americana* var. Mill).

2 ANTECEDENTES

El aguacate es el fruto del árbol del mismo nombre, de hoja perenne de la familia de las lauráceas. El aguacate es originario de México, Colombia y Venezuela. En el mundo hay alrededor de 500 variedades de aguacates, que difieren en la forma y el color de la fruta (Knight, 2002). Los mayores productores a nivel mundial son: México, República Dominicana, Indonesia, Colombia y Perú (FAOSTAT, 2015). Se reconocen tres razas (subespecies): mexicana, guatemalteca y antillana, las cuales se consideran subtropicales, semi-tropicales y tropicales respectivamente (Ortega y Pino, 1997).

2.1 Estructura del aguacate

El fruto del aguacate está constituido por el pericarpio y la semilla. El pericarpio está formado de tres capas: epicarpio (cáscara), mesocarpio (pulpa) y endocarpio junto a la cubierta seminal (Figura 2-1). El endocarpio se compone de pocas capas de parénquima de células aplanadas tangencialmente que a menudo se adhieren al tegumento (Barrientos, 1996).

Las células del parénquima, en las semillas, almacenan almidón (gránulos fundidos o agrietados en cotiledones y en el endospermo), proteínas (esferas o cuerpos pequeños e irregulares), o aceites (elaioplastos o en esferosomas) (Esau, 1977).

El embrión contiene nutrientes de reserva, orgánicos e inorgánicos, localizados alrededor del embrión o en sus mismos tejidos; contiene aproximadamente el 50 % del aceite de la semilla y antes de germinar presenta una situación citológica que indica inactividad, esto es la presencia de proteínas y lípidos de reserva (Esau, 1977; Scagel *et al.*, 1987).

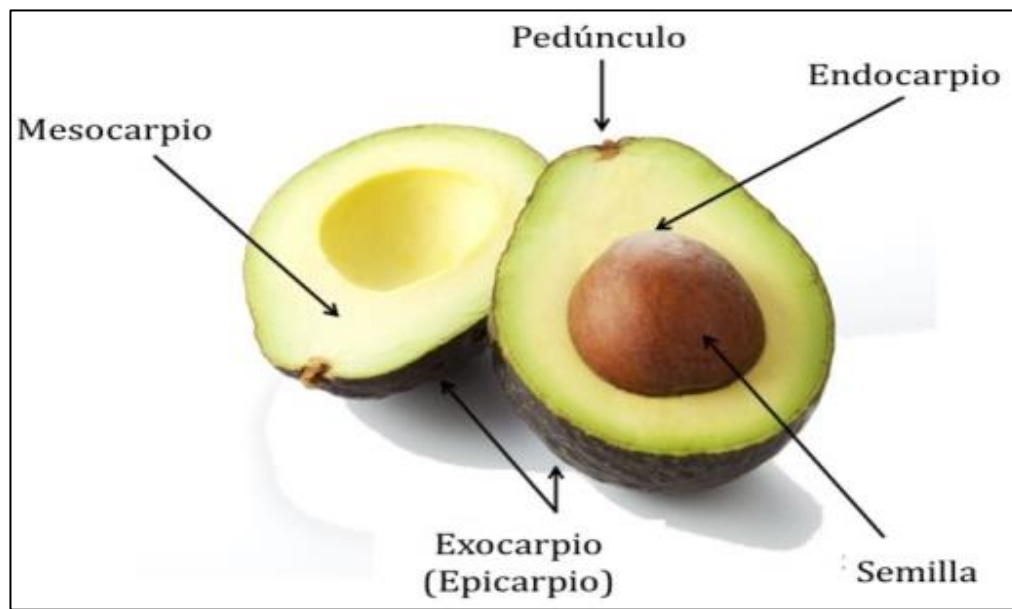


FIGURA 2-1 Estructura general del aguacate.

2.2 Variedades de aguacate

Los aguacates se dividen en tres especies hortícolas de acuerdo a las zonas de origen y las características distintivas: *Persea nubigena* var. *guatemalensis* L. WMS de Guatemala, *Persea americana* var. *drymifolia* Blake de México, y *P. americana* Mill. Var. americana de las Indias Occidentales. Las formas híbridas existen entre los tres tipos (Requejo, 1999). Estas tres razas se fueron mezclando naturalmente entre ellas por medio de su propio sistema de reproducción. El resultado de estas fusiones, producidas por medio de “polinización cruzada”, dieron origen a incontables variedades híbridas naturalmente definidas.

Existen innumerables híbridos (Tabla 2-1), como la variedad “Fuerte” de importancia comercial considerable, la cual se considera un cruzamiento entre la especie mexicana y guatemalteca (Hope, 1983).

TABLA 2-1: Características de algunas variedades del aguacate.

Variedad	Tamaño	Características
Bacón	Fruto de tamaño mediano de forma oval.	Variedad verde de sabor suave, con piel verde y delgada, mesocarpio amarilla verdosa, su peso varía entre 200 y 400 g. Originario de California.
Fuerte	Piriforme a oblongo.	Variedad que tiene características intermedias entre las razas mexicanas y guatemaltecas, considerándose un híbrido natural de estas dos razas, de peso entre 180 y 420 g.
Gwen	Fruto oval, con semilla pequeña a mediana.	Variedad verde parecida al "Hass", en tanto a sabor y textura, pero un poco más grande.
Hass	Forma oval, semilla de pequeña a mediana.	Variedad que está disponible todo el año, se distingue porque su piel se vuelve de verde al verde purpurino cuando madura. Originario de México.
Aguacatillo	Fruto de tamaño pequeño.	Variedad de piel muy delgada y comestible, de peso entre 36 y 40 g.

Cornejo-Mendoza, 2010.

2.3 Información nutrimental del aguacate

La porción comestible del aguacate está constituida principalmente por grasas, proteínas, carbohidratos y minerales, en concentraciones que dependen de la variedad, localización y del estado fisiológico del fruto. En la Tabla 2-2, se presentan algunos componentes entre las dos variedades de mayor importancia económica en México, Fuerte y Hass.

TABLA 2-2: Información nutrimental de aguacate Hass y Fuerte.

Composición (%)	Hass	Fuerte
Porción comestible	75	71.3
Humedad	68.4	65.7
Proteína	1.8	1.5
Grasa	20	26.6
Carbohidratos	7.8	4.6
Cenizas	1.2	1.6

Cornejo-Mendoza, 2010.

La importancia alimenticia del aguacate se debe a que se posee hasta 1.8 % de proteínas y un alto contenido de lípidos, en donde los ácidos grasos predominantes son el oleico, linoleico y palmítico.

En su valor nutritivo se considera su alto contenido en vitaminas como: tiamina, riboflavina, niacina, piridoxina y ácido pantoténico, así como la presencia de minerales de interés nutricional como fósforo, hierro, calcio y potasio y un alto contenido de glutamina (Reyes *et al.*, 2009; Reyes 2013; Moreiras, Carbajal, Cabrera y Cuadrado 2013).

Destacándose dentro de las vitaminas hidrosolubles el importante porcentaje que potencializa el poder antioxidante de los tocoferoles en la vitamina E; el aporte de las vitaminas liposolubles es suficiente en cantidad, sin la presencia de colesterol y con un bajo porcentaje de ácidos grasos saturados, la vitamina B9 o ácido fólico, imprescindible para prevenir enfermedades en el feto; y B6 necesaria para metabolizar las proteínas (Tovar, 2003).

2.4 Principales compuestos bioactivos presentes en el aguacate

Una amplia variedad de vegetales es altamente apreciada por su potencial terapéutico atribuido al contenido de componentes conocidos como fitoquímicos bioactivos (Foster *et al.*, 2005). Con el fin de obtener principios activos medicinales inocuos y eficaces, se ha intensificado la búsqueda de fitoquímicos de origen vegetal derivados de vegetales (Jones, 2002).

El aguacate es un alimento que contiene una gran cantidad de compuestos bioactivos que aportan beneficios al ser humano, entre los que destacan lípidos, aminoácidos, compuestos fenólicos, entre otros. El aguacate contiene nutraceuticos, que son compuestos químicos bioactivos naturales que tienen propiedades medicinales o que promueven la salud o previenen la enfermedad (Wildman, 2001).

2.4.1 Lípidos

El aceite de aguacate contiene una pequeña cantidad de ácidos grasos saturados comparable al del aceite de girasol, de maíz, de soya y de cacahuate,

aunque depende de la variedad y del estado de madurez (varía entre 10 y 19 %) (Ratovoherly *et al.*, 1988).

Respecto a los ácidos grasos monoinsaturados, el ácido oleico llega a alcanzar hasta un 80 % del total de los ácidos grasos en el aceite de aguacate (ISEO, 1999; Ratovoherly *et al.*, 1988).

El aceite de aguacate está en una posición intermedia entre los aceites vegetales respecto al contenido de ácidos grasos poliinsaturados (AGPI); contienen niveles más elevados de AGPI (11-15%) que el aceite de oliva o de palma, pero sus niveles son más bajos que el aceite de maíz, de algodón, de soya y de girasol (ISEO, 1999).

2.4.2 Flavonoides

Los flavonoides son compuestos de bajo peso molecular que comparten un esqueleto común de difenilpiranos (C6-C3-C6), compuesto por dos anillos de fenilos (A y B) ligados a través de un anillo C de pirano (heterocíclico). Los átomos de carbono en los anillos C y A se numeran del 2 al 8, y los del anillo B desde el 2' al 6'. La actividad de los flavonoides como antioxidantes depende de las propiedades redox de sus grupos hidroxifenólicos y de la relación estructural entre las diferentes partes de la estructura química (Bors *et al.*, 2002; Burda, y Oleszek, 2006). Esta estructura básica permite una multitud de patrones de sustitución y variaciones en el anillo C.

En función de sus características estructurales se pueden clasificar en:

- Flavanos, como la Catequina, con un grupo –OH en posición 3 del anillo C.
- Flavanoles, representados por la Quercetina, que posee un grupo carbonilo en posición 4 y un grupo –OH en posición 3 del anillo C.
- Flavonas, como las Diosmetina, que poseen un grupo carbonilo en posición 4 del anillo C y carecen de grupo hidroxilo en posición C3.

- Antocianidinas, que tienen unido el grupo –OH en posición 3 pero además poseen un doble enlace entre los carbonos 3 y 4 del anillo C (Chen *et al.*, 2007).

Los flavonoides se encuentran en frutas, verduras, semillas y flores, así como en cerveza, vino, té verde, té negro y soja, los cuales son consumidos en la dieta humana de forma habitual y también pueden utilizarse en forma de suplementos nutricionales, junto con ciertas vitaminas y minerales. Desempeñan un papel importante en la biología vegetal; así, responden a la luz y controlan los niveles de las auxinas reguladoras del crecimiento y diferenciación de las plantas. Otras funciones incluyen un papel anti fúngico y bactericida, confieren coloración, lo que puede contribuir a los fenómenos de polinización y tienen una importante capacidad para fijar metales como el hierro y el cobre (Formica y Regelson, 2005).

En estudios epidemiológicos se ha demostrado que con el consumo incrementado de frutas y vegetales se experimenta una reducción del 50 % en el riesgo de cánceres digestivos y de las vías respiratorias (Hollman y Katan, 1998). Así, la genistéina bloquea el desarrollo de tumores al prevenir la formación de nuevos vasos impidiendo con ello la llegada del oxígeno y nutrientes a las células neotumorales.

Los flavonoides protoantocianídicos pueden ser absorbidos por las membranas celulares y protegerlas de la acción de los radicales libres. Además combaten la inflamación (Sen *et al.*, 2002; Bagchi *et al.*, 2002) y las alergias y aumentan la efectividad de las células natural killer (también llamadas “asesinas naturales” en español, y abreviadas como NK) del sistema inmune (Bagchi *et al.*, 2002).

2.4.3 Ácidos fenólicos

Los fenoles simples como el fenol, timol y resorcinol están ampliamente distribuidos entre todas las especies vegetales. Igualmente, los ácidos fenólicos como el gálico, vainillínico, *p*-hidroxibenzoico, y los aldehídos como la vainillina, también son abundantes en plantas superiores y helechos (Martínez *et al.*, 2000).

Al igual que los flavonoides, los ácidos fenólicos son apreciados por sus propiedades antioxidantes y de captación de radicales libres (Contreras-Calderón *et al.*, 2011). Sus beneficios a la salud han sido ampliamente reportados, destacando principalmente inhibición de la oxidación de lipoproteínas de baja densidad (Martínez *et al.*, 2000), su actividad anticancerígena (Kaul y Khanduja, 1998).

En función de su estructura, los ácidos fenólicos se pueden dividir en dos grupos: derivados del ácido hidroxibenzoico, los cuales tienen una estructura general C6 – C1 y derivados del ácido hidroxicinámico (C6–C3). En el reino vegetal, estos compuestos pueden estar presentes en forma soluble, conjugados con ácidos orgánicos, azúcares, o enlazados a fracciones de la pared celular como la lignina. Estos metabolitos se producen por la vía de ácido shiquímico en el tejido de las plantas (Schuster y Herrmann, 1985) y son el precursor inmediato de los flavonoides (Martens y Mithöfer, 2005).

Algunas investigaciones han demostrado que, en humanos, los ácidos fenólicos, exhiben efectos potencialmente positivos: antimicrobianos, actividades cardioprotectoras, antialérgicas y antiinflamatorias, entre otras (Puuponen *et al.*, 2005; Rotelli *et al.*, 2003). Los compuestos fenólicos reportados recientemente en muestras de aguacate son: ácido gálico, ácido protocatecúico, ácidos gentísico, ácido 4-hidroxibenzoico, ácido siringico, ácido *p*-cumárico, ácido ferúlico, ácido trans-cinámico (Hurtado *et al.* 2011).

2.5 Principales fitoquímicos bioactivos presentes en fracciones morfológicas de aguacate

En los siguientes apartados se describen algunos estudios realizados que mencionan los compuestos químicos identificados en las fracciones morfológicas de aguacate.

2.5.1 Epicarpio

Ashton *et al.* (2006) realizaron un estudio para la identificación de compuestos en pigmentos de epicarpio, mesocarpio y aceite de aguacate de la variedad Hass,

utilizó un equipo HPLC-PDA. Los carotenoides y clorofilas identificadas fueron la luteína, el α -caroteno, β -caroteno, neoxantina, violaxantina, zeaxantina, anteraxantina, clorofilas a y b, y feofitinas a y b con las concentraciones más altas de todos los pigmentos en el epicarpio. La concentración de carotenoides totales fue diferente entre los diferentes tipos de tejidos ($P < 0.001$). La luteína fue el carotenoide más abundante en el epicarpio, con una concentración de $20,5 \mu\text{g}^{-1}$.

Posteriormente Fidelis *et al.* (2015) desarrollaron una película biodegradable que contenía tocoferol y extracto de epicarpio de aguacate. Los compuestos de los extractos fueron caracterizados y cuantificados usando Cromatografía líquida de ultra-alta eficiencia acoplada a espectrometría de masas con ionización por electrospray en modo de iones negativos (UPLC-ESI (-) - MS). Los compuestos identificados en los extractos de epicarpio de aguacate fueron: ácido cítrico ($133 \pm 10 \mu\text{g} / 100 \text{g}$ de extracto), hidrato de catequina ($82 \pm 3 \mu\text{g} / 100 \text{g}$ de extracto), ácido málico ($75 \pm 2 \mu\text{g} / 100 \text{g}$ de extracto), epicatequina ($62 \pm 3 \mu\text{g} / 100 \text{g}$ de extracto) y ácido tartárico ($11,8 \pm 0,1 \mu\text{g} / 100 \text{g}$ de extracto).

2.5.2 Mesocarpio

Pino *et al.*, en 2004, realizaron un estudio para identificar compuestos volátiles en mesocarpio de aguacate (*Persea americana*). Se utilizaron frutos verdes almacenados a temperatura ambiente. Para realizar la extracción se utilizó agua destilada y éter dietílico. Los extractos obtenidos fueron analizados por cromatografía de gases (GC) con detector de ionización de llama. Los constituyentes fueron identificados de acuerdo a su masa y fueron confirmados en muchos compuestos por sus índices de retención relativos. Los terpenoides fueron los compuestos predominantes. Entre los principales compuestos terpenoides se encontraron (Z) - nerolidol, (E, E)- α -farneseno, β -cariofileno, óxido de cariofileno y α -copaeno. Otros compuestos no terpenoides identificados fueron (E, E) - 2,4 - decadienal y (Z) - 3 - hexenol.

Hurtado *et al.* (2011) establecieron un método HPLC-DAD-ESI-TOF MS para la identificación de compuestos químicos en extractos metanólicos de mesocarpio de aguacate (*Persea americana*). Las variedades utilizadas en este estudio fueron: Hass, Lamb-Hass, and Rugoro. El mesocarpio de cada variedad fue congelado y liofilizado. Para realizar la extracción se utilizaron acetona, metanol, etanol y acetato de etilo en una relación de 4 g de muestra en 40 mL de disolvente. Las condiciones de separación e identificación se optimizaron usando una mezcla de 39 compuestos que incluían ácidos fenólicos y flavonoides. Se identificaron 17 compuestos en las muestras de las 3 variedades de aguacate; en la variedad Ruguro se encontró el mayor número de compuestos.

Posteriormente Hurtado-Fernández *et al.* (2011) realizaron un método para la determinación de metabolitos de mesocarpio de 13 variedades de aguacate (Hass, Lamb-Hass, Gem, Marvel, Jiménez 1, Jimenez 2, Pinkerton, Colin V33, Sir Prize, Tacambaro, Nobel, Harvest y Hass Motril) en dos diferentes grados de maduración. Para obtener los extractos utilizaron como disolvente metanol con la siguiente relación: 4 g muestra/40 mL metanol. La separación y cuantificación de metabolitos se utilizó HPLC-QTOF realizándose una validación analítica completa del método con respecto a su linealidad, sensibilidad, precisión y posibles efectos de matriz, con el cual se identificaron alrededor de 200 compuestos tales como ácidos orgánicos, azúcares, nucleósidos, vitaminas, isoprenoides, ácidos fenólicos y derivados de glucósidos, aminoácidos, flavonoides, ácidos grasos, hormonas vegetales entre otros.

2.5.3 Semilla

Wang *et al.* en 2010, realizaron una investigación para determinar la capacidad antioxidante, el contenido de compuestos fenólicos y la identificación y cuantificación de compuestos antioxidantes en diferentes razas y variedades de aguacate. Las variedades estudiadas fueron Slimcado, Booth 7, Booth 8, Choquette, Loretta, Simmonds y Tonnage. Las frutas se separaron manualmente para obtener el

epicarpio, las semillas y el mesocarpio, que fueron liofilizados y pulverizados (pasaron por un tamiz de 40 de malla estándar) para la extracción con disolventes.

Se realizaron extracciones con acetona/agua/ácido acético usando el ensayo de Folin-Ciocalteu para el contenido de compuestos fenólicos. La capacidad antioxidante fue determinada por el método de ORAC y DPPH. Las procianidinas fueron identificadas y cuantificadas usando HPLC-MSn. Los pigmentos antioxidantes (clorofila y carotenoides) fueron estimadas espectrofotométricamente. Para todas las variedades, la semilla fue la que contenía la mayor actividad antioxidante, compuestos fenólicos y procianidinas, el mesocarpio los presentó en menor cantidad.

Las procianidinas identificadas en el epicarpio y en la semilla usando HPLC-MSn fueron catequina, epicatequina, dímeros tipo A y B, trímeros tipo A y B, tetrámeros, pentámeros y hexámeros.

La capacidad antioxidante, el contenido de compuestos fenólicos y las procianidinas en aguacate están altamente correlacionados, sugiriéndose que las procianidinas son los compuestos fenólicos que mayormente contribuyen a la capacidad antioxidante. Este estudio sugiere que la semilla y el epicarpio de aguacate, pueden ser aprovechados como fuente de antioxidantes.

2.5.4 Tegumento

Zavaleta y Sánchez, en 2014, realizaron una investigación para validar una metodología para determinar taninos (catequina) en el tegumento de aguacate (*Persea americana* Miller var. Hass) por HPLC-DAD. Se preparó una solución madre de catequina de 1 mg/mL. Para realizar la extracción se utilizó agua ultra pura en una relación de 0.5 g de muestra en 4 mL de agua y se llevó al ultrasonido por 15 min. Para determinar la linealidad del método, se evaluaron 6 soluciones estándares comprendidas entre 1 y 25 µg/mL de catequina. La precisión y exactitud del método se evaluó mediante nueve determinaciones con tres niveles de concentración. De acuerdo al método evaluado se obtuvo que el límite de detección para taninos (catequina) fue de 0.21 µg/mL y el límite de cuantificación de 0.7 µg/mL. En la

evaluación de la precisión y exactitud del método, se obtuvieron valores de desviación estándar relativa inferiores al 2 %, lo que afirma la precisión y exactitud de la metodología aplicada.

2.6 Efectos del consumo de aguacate en la salud humana

La Asociación Americana de la Diabetes en un informe del 2002, recomienda que los hidratos de carbono y el consumo de grasa monoinsaturada debería representar de 60 a 70 % de la ingesta de calorías para las personas con diabetes, y de 15 a 20 % debe provenir de las proteínas. Las directrices de la Asociación Americana de Diabetes también presentan evidencia de que una dieta alta en grasas monoinsaturadas puede mejorar la tolerancia a la glucosa y reducir la resistencia a la insulina que permite un mejor control de la diabetes (American Diabetes Association, 2002).

El aguacate contiene β -sitosterol y glutatión. (Heber, 2002). Estos compuestos pueden ayudar a prevenir ciertos tipos de cáncer y enfermedades del corazón; se ha demostrado que el aguacate es una fuente excelente de Vitamina E, ya que contiene 1340 mg, que junto con el glutatión (27.7 mg/100 g) funcionan como antioxidantes disminuyendo la formación de radicales libres. El aguacate es un fruto con alto contenido de luteína (284 μ g), la cual es un carotenoide que ayuda a proteger los daños del ojo como el desarrollo de cataratas (Heber, 2002).

El péptido glutatión contenido en el aguacate (27.7 mg/100 g), funciona como antioxidante, neutralizando radicales libres que pueden causar daño en las células durante el envejecimiento y causar daños al corazón y diversos tipos de cáncer, incluyendo el de boca y faringe (Jones *et al.*, 1992). El aguacate es una fuente importante de ácidos grasos monoinsaturados en la dieta, lo cual evita la hiperlipidemia al disminuir los niveles de colesterol y triglicéridos, además de no provocar la disminución del nivel de lipoproteínas de alta densidad (Vázquez *et al.*, 2009).

2.7 Extracción de compuestos bioactivos

La extracción de compuestos bioactivos a partir de materias vegetales utilizando solventes es una operación clásica en muchos procesos industriales, el interés por la determinación de compuestos bioactivos de origen natural ha impuesto a desarrollar métodos de extracción, tales que brinden un mejor rendimiento de estos compuestos bioactivos, en un periodo de tiempo corto y de bajo costo.

Las técnicas de extracciones más comunes en la industria son la extracción sólido-líquido con agitación, por arrastre con vapor y mediante el equipo Soxhlet. Actualmente se estudian algunas técnicas modernas como la extracción asistida por ultrasonidos (Cabredo-Pinillos *et al.*, 2006) y la extracción asistida por microondas (Bousbia *et al.*, 2009).

2.7.1 Extracción sólido- líquido con agitación

Esta técnica de extracción es una de las más usadas tanto a nivel industrial como a nivel laboratorio, debido a que no requiere de equipos sofisticados.

Consiste en poner en contacto la muestra con un solvente dentro de un tanque con agitación continua o intermitente para favorecer el intercambio de masa, la difusividad y homogenizar el contacto sólido – líquido. Por lo general, este proceso se realiza con calentamiento a temperaturas por debajo de la temperatura normal de ebullición del solvente. Este método está limitado por la saturación del solvente de extracción, por lo que para obtener rendimientos de extracción elevados se requiere realizar varios lavados de la muestra, con lo que se consumen grandes cantidades de solvente (Ledesma-Escobar, 2011).

El proceso de agitación genera dos procesos que pueden ser empleados dependiendo de las necesidades de uso, el sólido ausente de esencias o el propio extracto. La naturaleza de los compuestos extraídos depende de la materia prima empleada, así como del líquido de extracción. Existen dos métodos por agitación de acuerdo a la temperatura caliente y frío (Geankoplis, 2006).

2.7.2 Extracción asistida por microondas

La tecnología de microondas, se ha convertido durante los últimos años, en una herramienta que mejora la productividad de los procesos (Wannberg, 2006). El microondas trabaja con radiaciones electromagnéticas que se encuentran en el rango de 0.3 a 300 GHz ($\lambda = 1$ hasta 0.001 m). (Wannberg, 2006; Tsubaki 2008). En comparación con los métodos convencionales de calefacción, las microondas generan calor dentro del material, lo que conduce a velocidades de calentamiento más rápido y en períodos de tiempos más cortos (Fang Li, 2010; Wannberg, 2006).

Esta técnica ha sido utilizada en la síntesis y extracción de compuestos por sus diversas ventajas (Bayramoglu *et al.*, 2008; Golmakani y Rezaei, 2008).

En este contexto, Jiménez *et al.* (2001), realizaron un estudio sobre las propiedades químicas y físicas del aceite de aguacate obtenido de puré de aguacate por microondas, en él demuestran que se obtiene un mayor rendimiento del aceite cuando se deshidrata la mesocarpio mediante energía de microondas. Las muestras de puré de aguacate obtenidas después de la deshidratación con microondas, conservan el color característico al aguacate fresco; igual que las muestras obtenidas por deshidratación en método horno eléctrico convencional.

2.7.3 Extracción asistida por ultrasonidos (UAE)

El ultrasonido de alta intensidad también conocida como sonicación se utiliza como un método alternativo de bajo costo, reproducible, simple y eficiente de relevancia industrial para mejorar el proceso de extracción de compuestos bioactivos.

Las ondas de ultrasonido después de la interacción con material vegetal alteran sus propiedades físicas y químicas y su efecto cavitacional facilita la liberación de compuestos extraíbles y mejora el transporte de masa mediante la ruptura de las paredes celulares de las plantas (Cabredo-Pinillos *et al.*, 2006; Chemat *et al.*, 2011; Vilku *et al.*, 2008).

En cuanto a la extracción asistida por ultrasonido, Ma *et al.* (2008), muestran una comparación de la extracción asistida con ultrasonido y la extracción por

maceración a partir de cáscaras de mandarina (*Citrus unshiu* Marc.), mostrando el efecto de las variables (potencia: 3.2, 8, 30 y 56 W; temperatura: 15, 30 y 40 °C; y tiempo: 10, 20, 30, 40, 50 y 60 min) del proceso de la extracción asistida por ultrasonido sobre el contenido de compuestos fenólicos, el contenido total de compuestos fenólicos medidos por el método de Folin-Ciocalteu y la actividad antioxidante medida por el método de CRHF (Capacidad para Reducir el Hierro Férrico). Los resultados mostraron que la extracción asistida por ultrasonido genera rendimientos más altos en tiempos más cortos, comparada con la extracción por maceración. Adicionalmente, en la extracción asistida por ultrasonidos, se evidenció que el aumento de la temperatura entre 15 y 30 °C, el aumento del tiempo de extracción entre 10 y 40 minutos y el aumento de la potencia entre 3.2 y 8 W, generaron un efecto positivo sobre la extracción de los compuestos fenólicos.

2.8 Actividad antirradical y el contenido de fenoles

2.8.1 Actividad antirradical

La actividad antioxidante no puede ser medida directamente, pero puede determinarse por los efectos del compuesto antioxidante en un proceso de oxidación controlado.

Existen varias técnicas para evaluar el poder antirradical de los compuestos fenólicos, entre las más destacadas: ABTS y DPPH que tienen la capacidad de atrapar radicales (Huang *et al.*, 2005; Deng *et al.*, 2011; Mason *et al.*, 2012).

2.8.1.1 Actividad antirradical DPPH

La molécula 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo (DPPH) es conocida como un radical libre estable debido a la deslocalización de un electrón desapareado sobre la molécula completa (Fig. 2-2), por lo cual la molécula no se dimeriza, como es el caso de la mayoría de los radicales libres. La deslocalización del electrón también intensifica el color violeta típico del radical, el cual absorbe la luz a 517 nm.

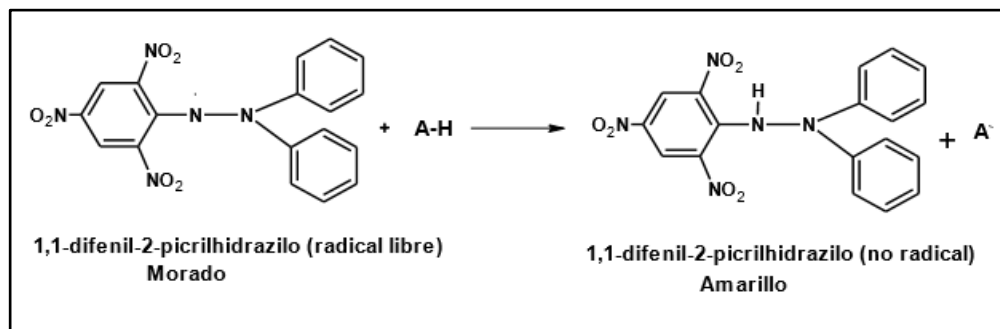


FIGURA 2-2 Estructura del DPPH antes y después de la reacción con el antioxidante. (Alam *et al.*, 2012).

En el estudio realizado por Moreno-Gómez en 2014, sobre la actividad antioxidante de extractos de pulpa de gulupa (*Passiflora edulis* Sims.), curuba (*Passiflora tripartita* var. *Mollissima*), aguacate (*Persea americana* Mill.), uchuva (*Physalis peruviana* L.), tomate de árbol (*Cyphomandra betacea* Sendt.) y lulo (*Solanum quitoense* Lam.), se determinó la actividad antioxidante por los métodos químicos: DPPH (2,2- difenil-2-picrilhidrazilo) y FRAP (poder antioxidante para reducir iones férrico), en el cual la curuba presentó el mayor contenido total de fenoles con un valor de 683.48 ± 19.48 mg ácido gálico/100 g muestra B.H. En el ensayo DPPH se encontró que el aguacate fue el extracto de mayor actividad antioxidante con un valor de 161.15 ± 4.25 μ mol Trolox / 100 g muestra B.H. y por FRAP la mayor actividad se obtuvo para el extracto de curuba con un valor de 148.07 ± 12.07 μ mol Trolox / g muestra B.H.

2.8.1.2 Actividad antirradical ABTS

El ABTS, 2, 2'-azino-bis ácido (3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico), es una sustancia cromogénica que se puede convertir en su forma monocatiónica radical ABTS^{•+} (coloreada) si se trata con un agente oxidante tal como el peróxido de hidrógeno. La técnica que utiliza ABTS^{•+}, implica la producción directa del cromóforo ABTS^{•+} verde-azul a través de la reacción entre ABTS y el persulfato de potasio (K₂S₂O₈). Éste presenta tres máximos de absorción a 645 nm, 734 nm y 815 nm. La adición de los antioxidantes al radical pre-formado lo reduce a ABTS (Fig. 2-3). De

esta manera el grado de decoloración como porcentaje de inhibición del radical catión $ABTS^{\bullet+}$ está determinado en función de la concentración y el tiempo (Re *et al.*, 1999; Arumugam *et al.*, 2006).

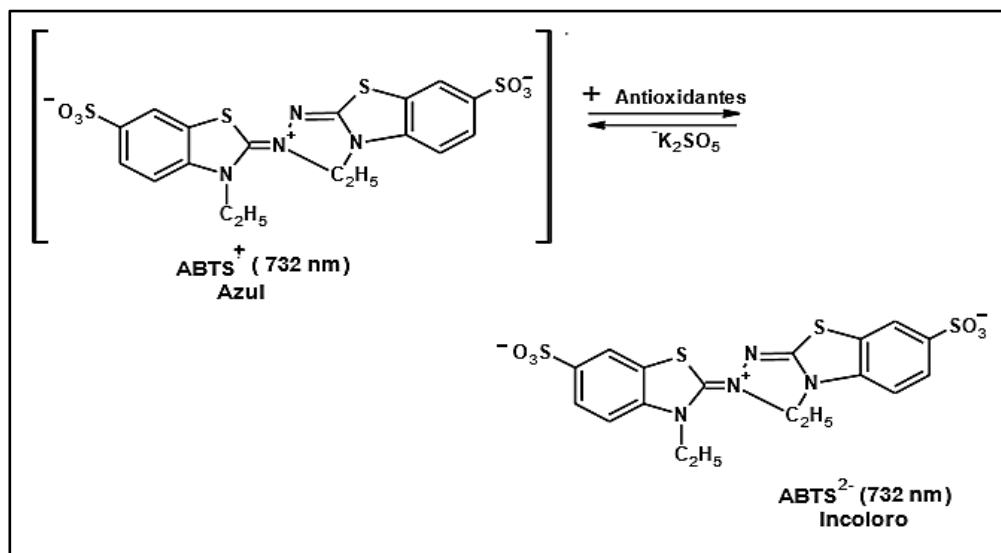


FIGURA 2-3 Estructura del $ABTS^{\bullet+}$ antes y después de la reacción con el antioxidante (Zuleta *et al.*, 2009).

Para calcular el porcentaje de decoloración del radical 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH) y del ácido 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico (ABTS) se utiliza la ecuación siguiente:

$$\%AA = \left(\frac{A_{control} - A_{muestra}}{A_{control}} \right) 100$$

Dónde:

AA : Actividad antirradical.

$A_{muestra}$: absorbancia de la muestra.

$A_{control}$: absorbancia del control (ausencia del antioxidante).

Vasco *et al.* en 2008, determinaron el contenido total de compuestos fenólicos solubles y la capacidad antioxidante, utilizando tres métodos diferentes (DPPH, FRAP y ABTS +) en diecisiete frutas de Ecuador. Para el contenido fenólico total medido por el método de Folin-Ciocalteu, tres grupos, que tenían <100, 200-500 y >1000 mg GAE / 100 g FW, fueron claramente distinguibles. La frambuesa andina, la cáscara de cereza capulina y la fruta de maracuyá se clasificaron en el tercer grupo, con concentraciones de 2167, 1494 y 1010 mg de GAE/100 g de peso corporal, respectivamente. Los análisis de capacidad antioxidante revelaron las mismas clases. FRAP y ABTS + dieron resultados comparables y estaban altamente correlacionados ($y = 0.691x + 6.78$; $r^2 = 0.908$).

2.8.2 Contenido total de fenoles por el método de Folin-Ciocalteu.

La determinación experimental consiste en propiciar una oxidación/reducción a través del reactivo de Folin-Ciocalteu, la reacción química que se lleva a cabo está indicada en la Figura 2-4.

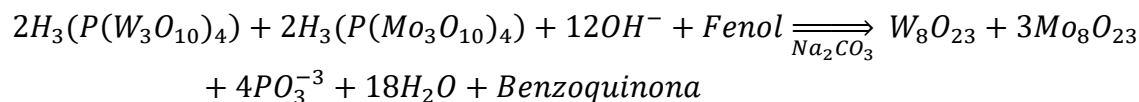


FIGURA 2-4 Reacción química por el método de Folin-Ciocalteu.

La intensidad del color azul formado se mide por espectrofotometría a 734 nm y su intensidad es proporcional a la cantidad total de fenoles. Los resultados se expresan como mg de ácido gálico/100 g de muestra en base humedad (B.H.).

En 2014, López- Lara realizó extracción con CO₂ supercrítico de compuestos antioxidantes del tegumento y semilla de aguacate variedad Hass, encontró que el rendimiento fenólico está directamente relacionado con el aumento de la temperatura y presión, obteniéndose mayor rendimiento a 300 bar y 60 °C, mientras que para la actividad antioxidante aumentando la temperatura y manteniendo la presión o

viceversa en posible obtener un mayor rendimiento. El tegumento tuvo un mayor contenido de compuestos fenólicos comparado con la semilla.

2.9 Metabolómica

El término metabolómica se ha atribuido tradicionalmente a O. Fiehn, que en 2002 la definió como “un análisis global, exhaustivo en el que se identifican y cuantifican todos los metabolitos de un sistema biológico” (Fiehn, 2002).

La metabolómica tiene como objetivo detectar, cuantificar y elucidar la estructura de los metabolitos, los cuales se caracterizan por una gran diversidad físico-química en sus estructuras moleculares. En esta gran diversidad de estructuras químicas encontramos metabolitos *endógenos* y *exógenos*; los primeros (entre los que se incluyen aminoácidos, ácidos orgánicos, ácidos nucleicos, ácidos grasos, azúcares, vitaminas, cofactores, pigmentos, antibióticos, etc.) son producidos de manera natural por un organismo, y los segundos (tales como fármacos, contaminantes ambientales, aditivos alimentarios, toxinas y otros xenobióticos) provienen de la interacción con el exterior (Patti *et al.*, 2012).

La metabolómica ha emergido como una herramienta importante para muchas disciplinas, principalmente las relacionadas con la salud y la nutrición. La metabolómica se clasifica en función de:

- El ámbito que abarca: animal (clínica) y vegetal.
- La estructura de los metabolitos: lipidómica, glicómica y metalómica.
- La exposición a estímulos externos: nutrimetabolómica o metabolómica, nutricional, xenometabolómica y farmacometabolómica.
- La dedicación al estudio de enfermedades: metabolómica clínica y cardiometabolómica.
- La orientación a alimentos considerados como “productos vivos”: metabolómica del vino.
- El espacio que abarca: metabolómica ambiental (Putri *et al.*, 2013).

La metabolómica, en comparación con otras ómicas, presenta varias ventajas que han permitido que su desarrollo sea acelerado en los últimos años (Cifuentes y Rutledge, 2013). Entre sus principales ventajas se pueden mencionar las siguientes:

1. Las plataformas analíticas son robustas y estables.
2. La reproducibilidad analítica y biológica es excelente.
3. Bajo coste del análisis por muestra y analito.
4. Mínimamente invasiva.
5. Integración total del sistema.

2.9.1 Aspectos del análisis metabolómico

El análisis se puede enfocar de diferentes tipos.

- Huella dactilar metabolómica (*metabolomic fingerprinting*) (Cevallos-Cevallos *et al.*, 2009).
- Huella pedicular metabolómica (*metabolomic footprinting*).
- Análisis orientado (*targeted analysis*) (Álvarez-Sánchez *et al.*, 2010b).
- Análisis metabolómico global (*global or coverage metabolomic analysis-untargeted analysis* – perfil metabolómico).

2.9.2 Aplicaciones de la Metabolómica

La metabolómica es usada para dos propósitos principales: (a) la búsqueda de diferencias entre huellas metabolómicas de diferentes poblaciones y (b) comprender e integrar las distintas rutas metabólicas, su relación y el control de la concentración celular de metabolitos y sus fluctuaciones (Fiehn, 2007).

La metabolómica presenta numerosas aplicaciones tales como: la producción agrícola y evolución de la calidad de los cultivos, evaluación y seguridad de los alimentos, evaluación de la toxicidad y de la nutrición, desarrollo farmacéutico, mejora en los cultivos y en la fermentación, avances tecnológicos en Química Analítica, secuenciación del genoma y elucidación en la función de genes, adaptaciones ambientales e integración de diversas ómicas.

2.9.3 Espectrometría de masas (MS)

La espectrometría de masas (MS) al igual que la espectroscopia de resonancia magnética nuclear (RMN) son las técnicas analíticas más usadas en estudios de metabolómica, la MS está casi siempre acoplada a técnicas cromatográficas como la cromatografía líquida (LC-MS), la cromatografía de gases (GC-MS), o menor medida la electroforesis capilar (Azmir *et al.*, 2013; Grossert, 2001).

Para generar los iones en fase gaseosa, hay diferentes tipos de fuentes de ionización, como la ionización de impacto electrónico por electrones (EI) y de ionización química (CI), que se utilizan en GC-MS, y la ionización por electrospray (ESI) y la ionización química a presión atmosférica (APCI) que se emplean en LC-MS.

El tipo de fuente de ionización utilizado depende de las propiedades de la molécula a analizar, tales como peso molecular, polaridad, volatilidad. Entre los analizadores de masas se encuentran el Cuádruplo (Q), Tiempo de Vuelo (TOF), Orbitrap y Transformada de Fourier (FTMS), los cuales varían en precisión y exactitud.

En ocasiones, para aumentar la sensibilidad de los análisis se utilizan detectores tándem MS, lo cual permite en ocasiones detectar hasta el doble de compuestos que con una sola MS. De acuerdo al análisis metabolómico que se requiere efectuar se determinan combinaciones de las fuentes de ionización y analizadores de masa (Q-TOF, MALDI-TOF MS, etc.) (Dunn *et al.*, 2005; Zhang *et al.* 2012).

2.9.4 Análisis de datos en metabolómica

Todas las técnicas utilizadas dan lugar a un conjunto de resultados complejo que requiere programas informáticos específicos para su visualización y métodos quimiométricos y bioinformáticos para su análisis estadístico. Esto es crucial para identificar y validar estadísticamente las sustancias que contribuyen a la clasificación o al diagnóstico, ya que ellas conforman un conjunto complejo de biomarcadores que

puede ayudar a definir el contexto biológico o clínico y explicar los mecanismos bioquímicos relacionados con los cambios observados (Nicholson *et al.*, 2007).

El Análisis de Componentes Principales (PCA) es un método estadístico no supervisado que no requiere conocimiento previo de la muestras, ello resulta muy útil para identificar patrones o tendencias dentro de los grupos de muestras. Este método, se basa en la reducción de la dimensionalidad de los datos de forma que las todas las variaciones quedan agrupadas en diferentes componentes (primero, segundo, tercero etc.), según su importancia en la interpretación de la variable observada (Halouska y Powers, 2006).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo general

Evaluar el efecto de los métodos de extracción sobre el perfil de metabolitos y la actividad antirradical en extractos de fracciones morfológicas de tres variedades de aguacate.

3.2 Objetivos específicos

- Establecer la metodología más adecuada para la extracción de metabolitos de epicarpio, mesocarpio, semilla y tegumento de aguacate de las variedades Fuerte (*Persea americana* var Mill), Hass (*Persea americana* L.) y Aguacatillo (*Persea caerulea*).
- Caracterizar los extractos con respecto al contenido de sólidos y fenoles totales, y a la actividad antirradical.
- Caracterizar los extractos de las diferentes fracciones morfológicas de aguacate mediante análisis global (LC-QTOF MS/MS).
- Identificar la mayor cantidad posible de metabolitos en los extractos mediante la comparación de espectros MS/MS obtenidos frente a los espectros existentes en base de datos.

4 MATERIALES Y MÉTODOS

La metodología propuesta para cumplir con los objetivos indicados en la sección anterior consistió en la selección de relación adecuada de solvente etanol:agua en función de la cantidad de sólidos extraídos por maceración de epicarpio, mesocarpio y semilla de aguacate de la variedad Fuerte. Con la relación seleccionada de solvente se buscaron las condiciones óptimas para la extracción asistida con ultrasonidos (tiempo, amplitud de onda y ciclo útil), asistida con microondas (potencia y tiempo) y agitación (hasta dos horas de extracción) con muestras de epicarpio, mesocarpio y semilla de aguacate var. Hass, bajo las condiciones de un diseño factorial.

Con las condiciones óptimas de operación se realizaron extracciones de epicarpio, mesocarpio, semilla y endocarpio de las tres variedades de aguacate (Fuerte, Hass y Aguacatillo) con ultrasonidos, microondas y agitación; los extractos obtenidos se almacenaron en oscuridad a -20 °C para las determinaciones de sólidos y fenoles totales, actividad antirradical y para la caracterización de los mismos.

La Figura 4-1 muestra el diagrama de la metodología general. Cabe mencionar que la metodología descrita a continuación se realizó en el Laboratorio de Enzimología en la Unidad de Investigación y Desarrollo de Alimentos del Instituto Tecnológico de Veracruz y en el Grupo de investigación FQM-227 del Departamento de Química Analítica de la Universidad de Córdoba, España.

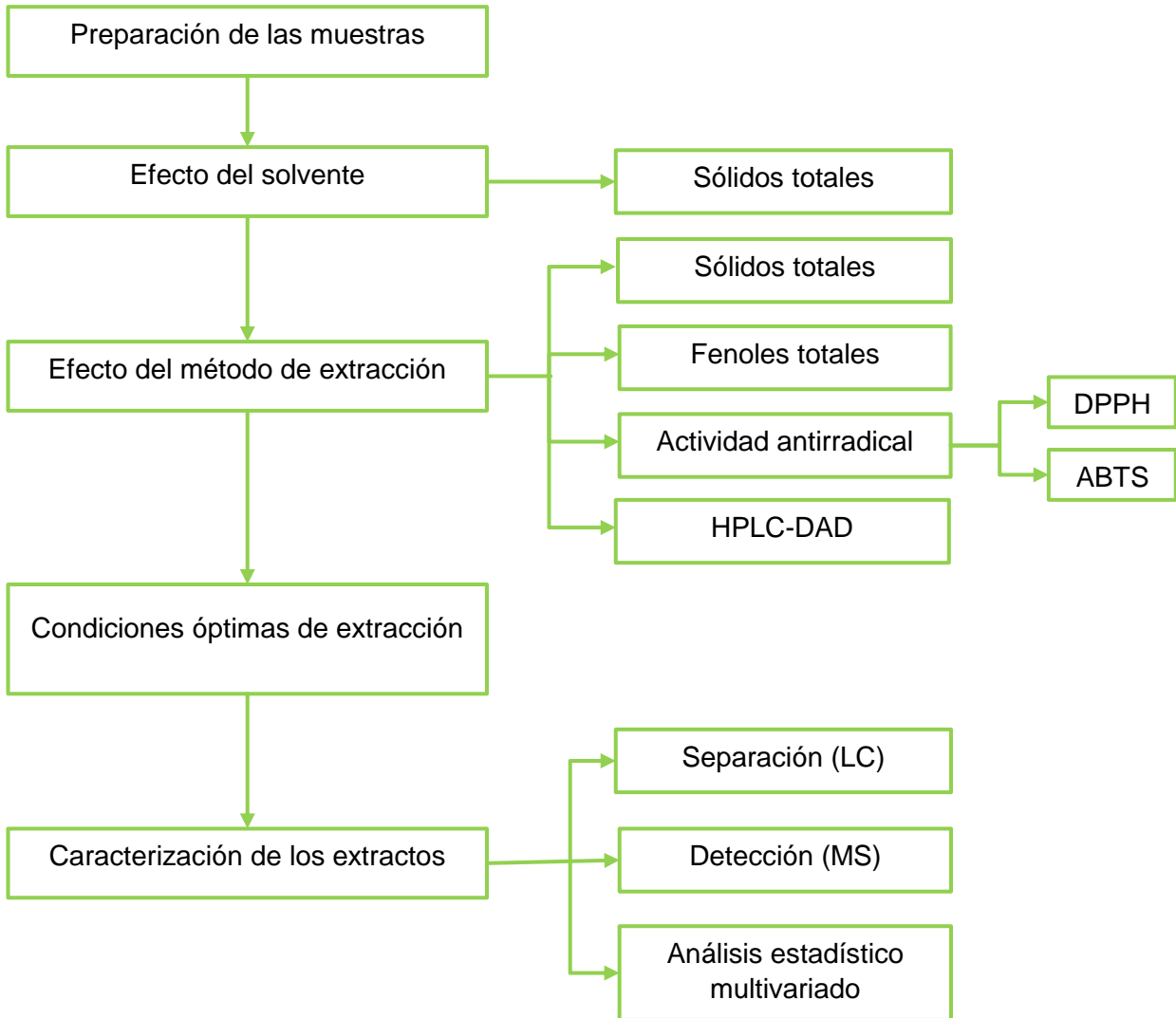


FIGURA 4-1 Diagrama de la metodología general.

4.1 Materia prima

Las variedades de aguacate seleccionadas para este estudio fueron: Aguacatillo (*Persea caerulea*), Hass (*Persea americana* L.) y Fuerte (*Persea americana* var. Mill). Los aguacates de la variedad Fuerte y Aguacatillo se compraron

en mercados locales de la Ciudad de Veracruz, México y los de la variedad Hass en Córdoba, España.

4.2 Reactivos y solventes

La Tabla 4-1 muestra los reactivos y solventes que se emplearon en las extracciones y análisis durante este trabajo.

TABLA 4-1: Reactivos y solventes empleados para la extracción y caracterización de antioxidantes fenólicos a partir de las fracciones morfológicas de aguacate.

Reactivo o solvente	Grado o pureza	Marca
Metanol (CH ₄ O)	HPLC-UV	Sharlab Chemical
Etanol (C ₂ H ₆ O)	Grado Reactivo	Sharlab Chemical
Metanol (CH ₄ O)	LC/MS	Fisher Chemical
Acetonitrilo (C ₂ H ₃ N)	LC/MS	Fisher Chemical
Acetonitrilo (C ₂ H ₃ N)	HPLC-UV	Sharlab Chemical
Reactivo de Folin-Ciocalteu	Grado Reactivo	Sharlab Chemical
Carbonato de sodio (Na ₂ CO ₃)	Grado Reactivo	Sharlab Chemical
Persulfato de potasio (K ₂ S ₂ O ₈)	Grado Reactivo	Sigma Aldrich
Ácido fórmico (CH ₂ O ₂)	LC/MS	Fisher Chemical
Ácido ascórbico (C ₆ H ₈ O ₆)		Sigma Aldrich
Ácido gálico (C ₇ H ₆ O ₅)		Sigma Aldrich
DPPH (C ₁₈ H ₁₂ N ₅ O ₆)	99%	Sigma Aldrich
ABTS (C ₁₈ H ₁₈ N ₄ O ₆ S ₄)	98%	Sigma Aldrich

4.3 Preparación de la muestra

Cada fruto de cada variedad, fue lavado, pesado y separado en cada una de las fracciones morfológicas (epicarpio, mesocarpio, semilla y tegumento). Las fracciones morfológicas se congelaron con nitrógeno líquido (-195.8 °C), se liofilizaron ("FreeZone", modelo US 7750020/ 7750021, Labconco), se pulverizaron a ≤ 4 mm y se almacenaron en bolsas metálicas tri-capa selladas al vacío a temperatura ambiente para su posterior uso.

4.4 Efecto de la proporción etanol:agua

Se pesó 1 g de epicarpio, mesocarpio o semilla de frutos de la variedad Fuerte y se colocó en matraz Erlenmeyer. Se adicionó el solvente con una relación sólido:solvente de 1:40 (g/mL). La extracción se realizó por maceración con agitación magnética a 45 °C. El solvente utilizado fue una mezcla etanol:agua a las proporciones de 20:80, 50:50 y 80:20. Se tomaron muestras a 30, 60 y 120 min. Los extractos obtenidos se filtraron con papel filtro Whatman No. 4 y se almacenaron en frascos ámbar a -20 °C hasta su posterior uso. A cada extracto se le determinó el contenido de sólidos totales.

4.5 Optimización de extracciones

A la proporción de disolvente seleccionada en el punto anterior, se optimizaron las extracciones asistidas con ultrasonidos y microondas bajo un diseño experimental de superficie de respuesta (Tabla 4-2). Como referencia, se realizó una extracción por maceración con agitación. En estos estudios se utilizaron fracciones morfológicas de aguacate de la variedad Hass (*Persea americana* L.). A los extractos se les evaluó el contenido de sólidos totales, compuestos fenólicos y actividad antirradical. Los extractos se filtraron sucesivamente con papel filtro Whatman No. 4 y con un filtro de 0.2 µm y se almacenaron en frascos ámbar a -20 °C hasta su posterior uso.

4.5.1 Extracción con agitación

La extracción de 1 g de cada fracción morfológica de aguacate se realizó con 40 mL de solvente (80:20, etanol/agua) en frascos ámbar de 125 mL, en un agitador con control electrónico de velocidad y tiempo (Vibromatic Rocking Mixer), a 60° C. Los extractos se realizaron por duplicado.

4.5.2 Extracción asistida por ultrasonidos

Las extracciones de 1 g de fracción morfológica se realizaron en frascos de 125 mL con 40 mL de solvente en un sonicador digital Brason 450 (20 kHz, 450 kHz) con sonda de ultrasonidos de titanio de 12.7 mm de diámetro. Se utilizó un baño a 0 °C para disipar el calor provocado por los ultrasonidos. Los experimentos se realizaron por duplicado.

Los resultados se analizaron mediante un modelo de superficie de respuesta (Ecuación 1), donde Y_i representa el valor estimado de la i -ésima respuesta.

$$Y_i = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{23} X_2 X_3 + \beta_{33} X_3^2 \dots \dots \dots \text{Ecuación 1}$$

4.5.3 Extracción asistida por microondas

La extracción asistida por microondas se realizó en las proporciones sólido:solvente descritas anteriormente en un equipo “Microdigest 301; Prolabo, Paris, Francia” de 200 W, con control de potencia. Los resultados se analizaron mediante el modelo de superficie de respuesta de la ecuación 2.

$$Y_i = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{22} X_2^2 \dots \dots \dots \text{Ecuación 2}$$

TABLA 4-2: Diseño de experimentos Box-Behnken para estudiar el efecto de las condiciones de extracción de epicarpio, mesocarpio, tegumento y semilla de aguacates de la variedad Hass sobre la concentración de compuestos funcionales extraídos.

No. Exp.	Agitación	Extracción asistida con ultrasonidos			Extracción asistida con microondas	
	tiempo (min)	tiempo (min)	Ciclo útil (s/s)	Amplitud (%)	Ciclos de irradiación (30 s/30 s)	Potencia (W)
1	10	10	0.5	10	10	55
2	20	6.5	0.5	40	5	55
3	30	10	0.1	40	5	10
4	45	3	0.1	40	15	10
5	60	10	0.5	70	15	55
6	120	3	0.5	70	10	100
7		6.5	0.9	10	5	100
8		3	0.9	40	15	100
9		6.5	0.1	70	10	10
10		6.5	0.5	40	10	55
11		6.5	0.9	70	5	55
12		10	0.9	40	5	10
13		6.5	0.5	40	15	10
14		3	0.5	10	15	55
15		6.5	0.1	10	10	100
16		10	0.5	10	5	100
17		6.5	0.5	40	15	100
18		10	0.1	40	10	10
19		3	0.1	40		
20		6.5	0.5	70		
21		3	0.5	70		
22		6.5	0.9	10		
23		3	0.9	40		
24		6.5	0.1	70		
25		6.5	0.5	40		
26		6.5	0.9	70		
27		10	0.9	40		
28		6.5	0.5	40		
29		3	0.5	10		
30		6.5	0.1	10		

4.6 Contenido de sólidos totales

Los sólidos totales se calcularon en una alícuota de 2 mL de extracto colocados en un tubo eppendorf previamente tarado. La muestra se evaporó en un concentrador al vacío Eppendorf Concentrator Plus (Hamburgo, Alemania, Modelo 2013) a 60 °C durante 24 horas.

4.7 Contenido total de fenoles

Para la cuantificación de fenoles totales se utilizó la técnica de Folin-Ciocalteu. Se mezclaron 1.58 mL de agua destilada, 100 µL del reactivo de Folin–Ciocalteu y 20 µL del extracto, después de un reposo de 5 min, se añadieron 300 µL de carbonato de sodio al 20 % y se incubó a 40 °C durante 30 min, la absorbancia se midió a 765 nm en un espectrofotómetro “Thermo Spectronic® Helios alpha UV/Visible”.

Para obtener la concentración de compuestos fenólicos en los extractos se realizó una curva de calibración con una solución stock de ácido gálico a 1 mg/mL, se siguió el procedimiento anterior para prepararla utilizando concentraciones de 0.01 a 0.7 mg/mL. El blanco se preparó con todos los reactivos a excepción de la muestra que fue sustituida por el solvente de extracción. La curva de calibración se realizó para cada tipo de fracción morfológica y para cada método. Los resultados se expresaron en equivalentes de ácido gálico. Las curvas de calibración se encuentran en las Figuras 8-1, 8-4 y 8-7 del Anexo 1.

4.8 Determinación de la actividad antirradical

4.8.1 Medición de la actividad antirradical con DPPH

Se determinó la actividad antioxidante del extracto con 0.003 g del radical libre DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidracilo) disueltos en 100 mL de metanol (MeOH), se dejó reposar por 5 min y se ajustó a una absorbancia de 0.8 ± 0.02 a 517 nm (usando como blanco MeOH puro). La solución de referencia se preparó con 1 mL del DPPH

y 50 µL del disolvente de extracción. El porcentaje de actividad antirradical se calculó como porcentaje de decoloración de DPPH mediante la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Actividad antiradical} = \left(1 - \frac{A_m}{A_R}\right) * 100 \quad \dots\dots\dots \text{Ecuación 3}$$

Donde A_m es la absorbancia de la muestra y A_R es la absorbancia de la referencia. Los resultados se expresaron como mg equivalentes de ácido ascórbico y como porcentaje de inhibición. La curva de calibración se obtuvo de una solución stock de ácido ascórbico de 1 mg/mL, la cual se diluyó para obtener 0.01, 0.025, 0.05, 0.10, 0.15 y 0.2 mg/mL de concentración. La curva de calibración se realizó para cada tipo de fracción morfológica y para cada método. Los resultados se expresaron en equivalentes de ácido ascórbico. Las curvas de calibración se presentan en las Figuras 8-2, 8-5 y 8-8 del Anexo 1.

4.8.2 Análisis de la actividad antirradical por el método ABTS

La formación del radical ABTS^{•+} se realizó mediante la reacción de persulfato de potasio (2.45 Mm) con ABTS (2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6- ácido sulfónico) (7Mm). Para esto, se pesaron 0.0033 g de persulfato de potasio, 0.0194 g del reactivo de ABTS, se colocaron en un frasco y se añadieron 5 mL de agua destilada. La mezcla se agitó, dejándola reposar por 16 h en oscuridad a temperatura ambiente.

Para el análisis, se diluyeron 150 µL del radical ABTS con 15 mL de etanol absoluto en oscuridad, hasta obtener una absorbancia de 0.7 ± 0.02 a 754 nm. En un tubo se colocaron 980 µL de la solución de ABTS y se añadieron 20 µL del extracto. La mezcla se agitó y se dejó reposar durante 5 min y se dio inicio a la reacción a 754 nm. La absorbancia de referencia se obtuvo añadiendo 20 µL del solvente de extracción en lugar del extracto (Brekša y Manners, 2006). El porcentaje de actividad antirradical se calculó como porcentaje de decoloración de ABTS mediante la ecuación 3. La curva de calibración se realizó para cada tipo de fracción morfológica y para cada método. Los resultados se expresaron en equivalentes de ácido

ascórbico. Las curvas de calibración obtenidas se presentan en las Figuras 8-3, 8-6 y 8-9 del Anexo 1.

4.9 Optimización de respuestas múltiples

La optimización de respuestas múltiples se realizó para maximizar la concentración de picos cromatográficos más abundantes y cuya respuesta correlacionara positivamente con la actividad antioxidante, así mismo, para minimizar aquellos que correlacionaban negativamente. En función de la muestra se seleccionaron entre 5 y 10 picos cromatográficos del cromatograma obtenido mediante HPLC-DAD.

Se utilizó una función de deseabilidad global (Ecuación 4):

$$D = (d_i(Y_i) \dots (d_n(Y_n))1_n) \dots \dots \dots \text{Ecuación 4}$$

Donde D representa la deseabilidad global del experimento, $d_i (Y_i)$ es la deseabilidad individual de cada metabolito en el experimento y n el número total de respuestas estudiadas en cada experimento.

Para evaluar la deseabilidad global del experimento es necesario calcular la deseabilidad individual de cada una de las respuestas. En el caso de maximizar la respuesta, la función de deseabilidad individual se define como (Ecuación 5):

$$d_i(Y_i) = \frac{Y_i - Y_{min}}{Y_{max} - Y_{min}} \dots \dots \dots \text{Ecuación 5}$$

Donde Y_i es el resultado experimental, Y_{max} e Y_{min} representan el valor máximo y mínimo, respectivamente, de la variable encontrada a lo largo del diseño. Para esto se utilizó el software “STATGRAPHICS® Centurion XVI”.

A partir de los resultados del estudio de deseabilidad se realizaron nuevas extracciones con cada una de las energías auxiliares estudiadas, las cuales se usaron para el estudio comparativo de los diferentes métodos de extracción.

4.10 Separación y análisis de metabolitos

La separación de los metabolitos para todos los estudios se llevó a cabo por cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC) en una columna cromatográfica C18 Inertsil ODS-2 (250 mm × 4.6 mm d.i., 5 µm partícula), usando como fases móviles (A) agua y (B) acetonitrilo con un flujo de 0.8 mL/min, mediante el siguiente gradiente: 0 min 4% B; 2 min 21%, 27 min 24% B, 29 min 100% B; 40 min 4% B; 45 min 4% B. El volumen de inyección fue de 20 µL cuando se usó el detector de luz UV-Visible, mientras que para los análisis por espectrometría de masas (MS) fue de 10 µL. Para el análisis por MS se agregó a las fases móviles ácido fórmico 0.1% como agente ionizante.

4.10.1 Cromatografía de líquidos de alta resolución acoplada a un detector de diodos en fila (HPLC-DAD)

La optimización de las técnicas de extracción se realizó con un cromatógrafo de líquidos Agilent 1100 que consta de: desgasificador de vacío G1322A, bomba capilar G1376A, acoplado a un detector de diodos en fila (DAD) G1315A y válvula de alta presión para inyección manual Rheodyne 7725. En todos los casos se midió la absorbancia de las muestras usando simultáneamente 5 longitudes de onda (210, 254, 280, 320 y 450 nm).

4.10.2 Cromatografía de líquidos de alta resolución acoplada a detector híbrido cuadrupolo-tiempo de vuelo de alta resolución (HPLC-QTOF-MS/MS)

La separación de los metabolitos para los análisis por espectrometría de masas se llevó a cabo en un cromatógrafo de líquidos Agilent serie 1200 que consta de: desgasificador de vacío G1379B, bomba binaria SL G1312B, automuestreador G1367C y termostato para columna G1330B. La ionización de los metabolitos previo al análisis por MS se realizó mediante ionización electrospray (ESI), tanto en modo positivo como en negativo con las siguientes condiciones: presión del gas nebulizador 50 psi, flujo y temperatura del gas de secado 10 L/min y 360 °C.

El análisis por espectrometría de masas se realizó con un detector híbrido cuadrupolo-tiempo de vuelo de alta resolución (Agilent Q-TOF 6540), con adquisición de datos en modo centroide dentro de un rango dinámico extendido (2 GHz). Los datos se obtuvieron en modo MS con una velocidad de 6 espectros/s en el rango m/z de 40–1200 y en modo MS/MS para los iones precursores más intensos con una velocidad de 3 espectros/s en el rango m/z de 30–1200. La fragmentación se realizó usando 2 energías de colisión (20 V y 40V), en todos los casos.

4.11 Análisis no orientado (global y huella dactilar)

En todos los casos, se realizó un análisis discriminativo por análisis de componentes principales (PCA) con el fin de identificar la formación de grupos correspondientes a una misma muestra y observar si éstos se separaban entre sí. El PCA permite identificar la existencia de diferencias entre las muestras en base a la huella dactilar (fingerprints) de cada una de ellas.

Estos análisis se realizaron mediante el programa en línea MetaboAnalyst 3.0. (www.metaboanalyst.ca).

4.12 Identificación de metabolitos

La información MS/MS obtenida de cada metabolito se analizó mediante el programa Mass Hunter Qualitative Data Analysis v.7.0 (Agilent Technologies, Inc. 2016) y se utilizó para la identificación de tantos metabolitos como fuera posible en cada caso, por comparación de los espectros MS/MS obtenidos contra los almacenados en las bases de datos públicas METLIN (<http://metlin.scripps.edu>); HMDB (<http://www.hmdb.ca>), MassBank (<http://www.massbank.jp>) y ReSpect (<http://spectra.psc.riken.jp>), así como en las generadas por el grupo de investigación donde se desarrolló la investigación (Figura 4-2).

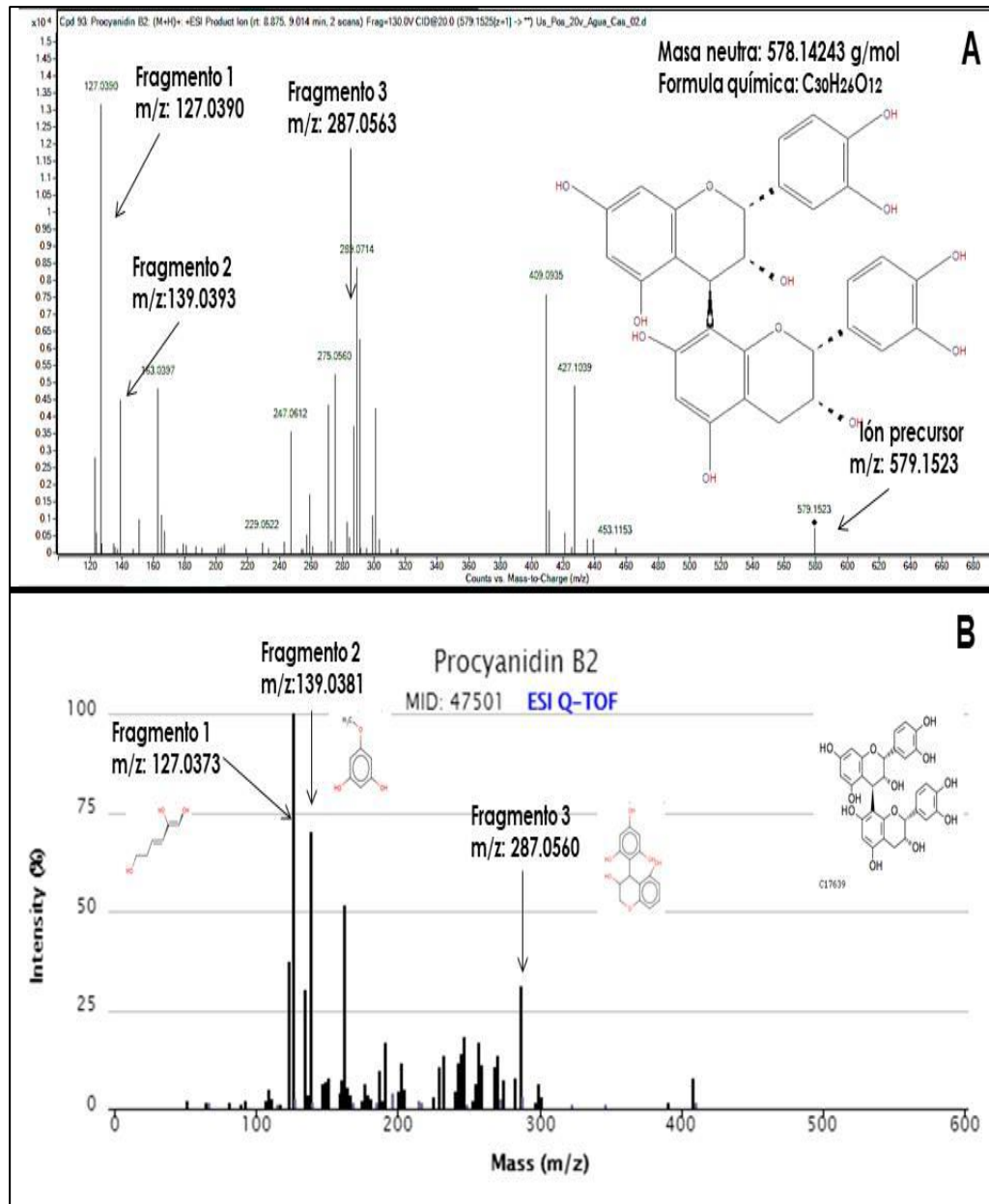


FIGURA 4-2 Comparación del espectro MS/MS de Procianidina B2 obtenido a 40 eV de energía de colisión. (A) Espectro del programa Qualitative Analysis B.07.00 y (B) Espectro de la base de datos Metlin.

5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El peso promedio de los aguacates utilizados varió de acuerdo a la variedad y tamaño del fruto aguacate. De las tres variedades en estudio, el aguacatillo fue el más pequeño, con un peso promedio de 36.12 g. El aguacate Fuerte, de clasificación mediana, pesó 151.51 g, mientras que el aguacate Hass pesó en promedio 228.68 g, indicando su clasificación como extra. Saavedra (1995) y Belmar (1996), publicaron que el peso promedio del fruto de la variedad Hass varía entre 200 y 300 g, rango en el que se encuentra el peso obtenido. Los porcentajes de cada fracción morfológica de cada variedad, se pueden observar en la Tabla 5-1. Como puede observarse en la Tabla 5-1, el mesocarpio es la fracción morfológica más importante en todas las variedades, mientras que el tegumento constituye la fracción más pequeña, aunque el aguacate de la variedad Fuerte es el que la contiene en mayor proporción debido a que también la semilla de esta variedad es la más grande, debe recordarse que el tegumento recubre a la semilla.

TABLA 5-1: Peso de las muestras frescas de las tres variedades en estudio.

Variedad	Número de frutos	Peso total (g)	Peso medio (g)	Peso de las fracciones (g, media \pm desviación estándar)			
				Epicarpio	Mesocarpio	Semilla	Tegumento
Fuerte	10	2286.81	228.68	20.57	158.79	54	4.16
			\pm 37.70	\pm 2.83	\pm 33.31	\pm 4.35	\pm 0.41
Hass	9	1363.6	151.51	20.59	101.45	21.6	0.68
			\pm 15.62	\pm 3.21	\pm 14.08	\pm 5.21	\pm 0.17
Aguacatillo	38	1295.08	36.12	3.05	14.13	11.70	0.51
			\pm 4.30	\pm 2.11	\pm 2.95	\pm 2.24	\pm 0.105

Como puede observarse en la Tabla 5-2, la humedad de las fracciones morfológicas está relacionada con la variedad del fruto del cual proviene. Los tejidos de frutos de la variedad Fuerte mostraron el mayor contenido de humedad comparado con las otras dos variedades. Estos porcentajes dependen de varios factores, entre ellos se encuentra la región donde se cultiva y la madurez del fruto (Donetti y Terry, 2014).

TABLA 5-2: Porcentaje de humedad de las fracciones de aguacate de las variedades estudiadas.

Muestra	Variedad Fuerte	Variedad Hass	Variedad Aguacatillo
Epicarpio	34.23	19.17	2.87
Mesocarpio	38.84	10.96	
Semilla	19.81	2.77	10.96
Tegumento	2.73		0.8

5.1 Efecto del tiempo de extracción con agitación

Para determinar el tiempo adecuado de extracción, se realizaron cinéticas de sólidos extraíbles totales hasta alcanzar el equilibrio utilizando mesocarpio y semilla de aguacate de la variedad Fuerte. En la Figura 5-1 se observa que después de 3 h de maceración del mesocarpio se continúan extrayendo sólidos, mientras que en el caso de la semilla, se observa que se alcanza el equilibrio a partir de las 2 h.

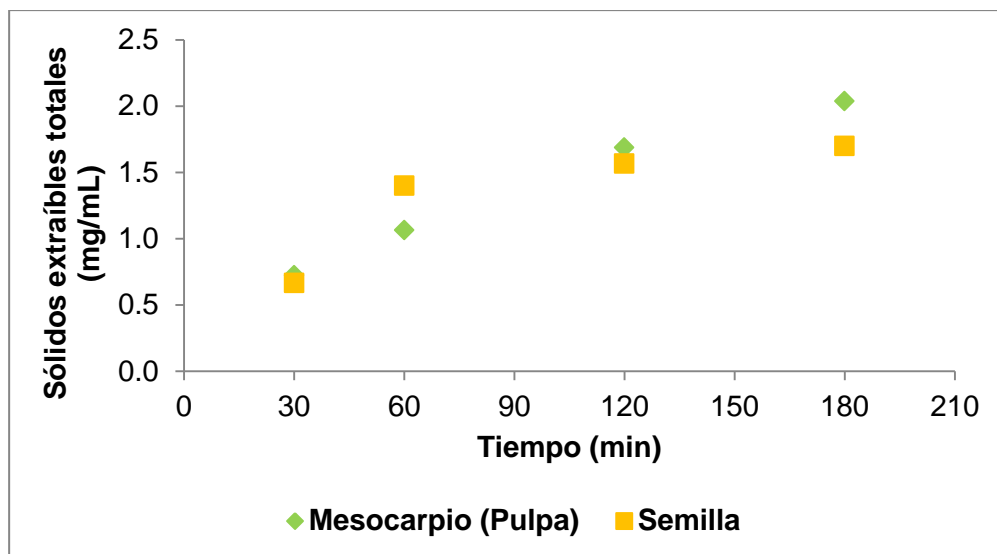


FIGURA 5-1 Evolución de los sólidos extraíbles totales durante la extracción por maceración con agitación en etanol:agua (80:20) de mesocarpio y semilla de aguacate variedad Fuerte.

5.2 Efecto de la proporción etanol:agua sobre los sólidos extraídos

La cinética de sólidos extraídos durante la extracción de epicarpio, mesocarpio y semilla de aguacate var. Fuerte con las diferentes proporciones de etanol:agua (50:50, 20:80 y 80:20) se observan en la Figura 5-2. Los extractos de mesocarpio y semilla presentaron un contenido similar de sólidos extraíbles a las 60 min y no se observan diferencias a las dos horas de extracción. El extracto de epicarpio mostró una conducta similar, pero con un contenido de sólidos de aproximadamente la mitad de los obtenidos con mesocarpio y semilla. En la Figura 5-2 se observa que la relación de solvente que mostró mayor extracción de sólidos totales fue la de 80:20, por lo que se eligió esta relación para las extracciones asistidas por ultrasonidos y microondas y por agitación.

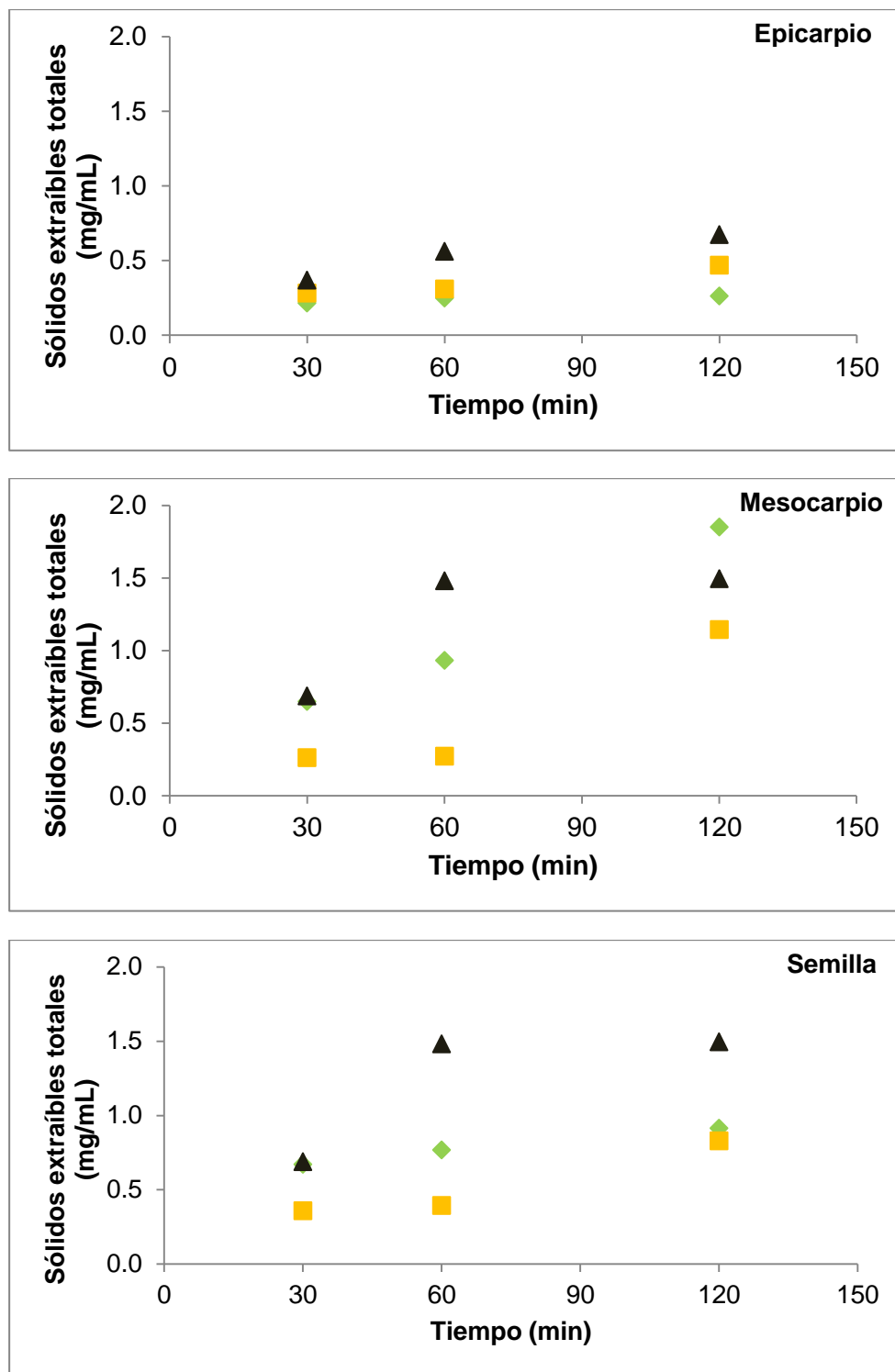


FIGURA 5-2 Efecto de la proporción de etanol:agua (♦ 50:50, ■ 20:80, ▲ 80:20 v/v) sobre la evolución de los sólidos extraíbles totales durante la extracción con agitación de epicarpio, mesocarpio y semilla de aguacate var. Fuerte.

5.3 Optimización de las extracciones asistidas con ultrasonidos

5.3.1 Optimización de la extracción de epicarpio de aguacate asistida con ultrasonidos

Para encontrar los valores óptimos de extracción se realizó el análisis de múltiples respuestas mediante un modelo de deseabilidad. Cada respuesta fue optimizada de forma individual por medio del modelo de superficie de respuesta representado por la Ecuación 1.

$$Y_i = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{23} X_2 X_3 + \beta_{33} X_3^2$$

Dónde: X_1 = tiempo (3, 6.5 y 10 min), X_2 = amplitud (10, 40 y 70 %) y X_3 = ciclo útil (0.1, 0.5, 0.9 s/s). Las variables de respuesta fueron Y_1 : DPPH, Y_2 : fenoles totales, Y_3 : ABTS, Y_4 : sólidos totales, Y_5 : pico 1, Y_6 : pico 2, Y_7 : pico 3, Y_8 : pico 4, Y_9 : pico 5, Y_{10} : pico 6, Y_{11} : pico 7, Y_{12} : pico 8, Y_{13} : pico 9 y Y_{14} : pico 10.

Los coeficientes de regresión para cada una de las variables de respuesta de extractos de epicarpio de aguacate var. Hass obtenidos con la asistencia de ultrasonidos se encuentran en la Tabla 5-3.

El tiempo y el ciclo útil tuvieron un efecto significativo positivo sobre el valor de DPPH, el caso contrario se observó con la amplitud, que lo afectó significativamente de manera negativa (Tabla 8-1 del Anexo 2). La interacción tiempo-amplitud y los términos cuadráticos de tiempo y de ciclo útil ejercieron efecto significativo negativo sobre la actividad antirradical DPPH. En el caso del contenido de fenoles totales el tiempo y la amplitud de onda afectaron significativamente de manera negativa, así mismo con la interacción entre ellos. En lo que respecta a la actividad antirradical por ABTS se observó que, al igual que el contenido de compuestos fenólicos, el tiempo y la amplitud mostraron efecto significativo negativo sobre dicha actividad. En el caso del contenido de sólidos totales los parámetros que muestran efecto significativo son la amplitud y el ciclo útil.

TABLA 5-3: Coeficientes de regresión de las 14 variables de respuesta seleccionadas para la optimización de la extracción de epicarpio de aguacate var. Hass asistida con ultrasonidos.

Coeficiente	Y ₁	Y ₂	Y ₃	Y ₄	Y ₅	Y ₆	Y ₇	Y ₈	Y ₉	Y ₁₀	Y ₁₁	Y ₁₂	Y ₁₃	Y ₁₄
β_0	1.5852	2.5601	11.8315	0.6710	0.0749	0.0063	0.0050	2.8775	2.5719	1.1873	0.5292	1.3214	0.0667	0.0304
β_1	0.0802	-0.0615	-0.4041	0.0420	-0.0044	-0.0008	-0.0007	-0.0088	-0.0086	0.0360	-0.0027	-0.0442	-0.0069	-0.0011
β_2	-0.0082	-0.0074	-0.0355	-0.0100	-0.0005	0.0001	0.0003	-0.0149	-0.0180	-0.0048	-0.0037	0.0030	0.0003	0.0003
β_3	0.0875	1.4502	5.8615	-0.4579	-0.0105	-0.0010	-0.0047	-0.4017	-0.2941	-0.1747	-0.0344	0.3725	0.0041	-0.0063
β_{11}	-0.0130	-0.0039	-0.0174	-0.0053	0.0002	0.0001	0.0001	-0.0107	-0.0119	-0.0085	-0.0026	0.0007	0.0005	0.0000
β_{12}	-0.0001	-0.0016	-0.0004	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0002	-0.0003	-0.0001	-0.0002	0.0000	0.0000
β_{13}	0.1269	0.2648	1.2457	0.0451	0.0028	-0.0007	-0.0013	0.2103	0.2321	0.1154	0.0517	0.0078	-0.0032	-0.0008
β_{22}	0.0001	0.0001	0.0004	0.0001	0.0000	0.0000	0.0000	0.0002	0.0002	0.0001	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
β_{23}	0.0056	0.0061	0.0260	0.0063	0.0004	-0.0001	0.0000	0.0111	0.0091	0.0070	0.0065	0.0022	-0.0001	-0.0003
β_{33}	-0.8739	-2.9712	-12.3385	-0.0766	-0.0102	0.0085	0.0106	-0.9815	-1.0949	-0.6194	-0.4577	-0.4363	0.0263	0.0177

Las tres variables de extracción mostraron efecto significativo negativo sobre los picos 1, 4, 5 y 7 del cromatograma de la Figura 8-10 del Anexo 3; en el caso de los picos 2, 3 y 10, solamente la amplitud mostró efecto significativo positivo y para los picos 6, 8 y 9, el tiempo mostró efecto significativo negativo en comparación con la amplitud y el ciclo útil que muestran efecto significativo positivo. La amplitud de onda ejerció efecto significativo ($p \leq 0.05$) para DPPH, fenoles totales, ABTS y los picos 2, 4, 5, 6, 7, 9 y 10.

En base al estudio de deseabilidad, tomando en cuenta los 10 picos seleccionados, se encontró que el tiempo de extracción más adecuado fue de 3 min. El valor más adecuado de amplitud de onda fue de 70 %, excepto para sólidos totales y los picos 1, 3, 8 y 9, para los cuales la amplitud más adecuada fue de 10 %, 69.62 %, 46.59 %, 54.32 %, 31.11 % respectivamente. Para la extracción global, el valor óptimo fue de 70 %.

El ciclo útil ejerció efecto significativo sobre los picos 1, 4 y 5, con 0.9 s/s, en el caso de ABTS y los picos 6, 7 y 9 el efecto significativo se observó a 0.89 s/s, las variables que mostraron un ciclo útil mucho menor fueron los sólidos totales y los picos 2, 3 y 10 con un ciclo útil de 0.10 s/s. Para la extracción global de las 14 variables, el ciclo útil ideal fue 0.3 s/s. El gráfico de deseabilidad para la extracción global se muestra en la Figura 5-3.

Los gráficos de superficie de respuesta para cada una de las variables de respuesta se encuentran en la Figura 8-19 del Anexo 4.

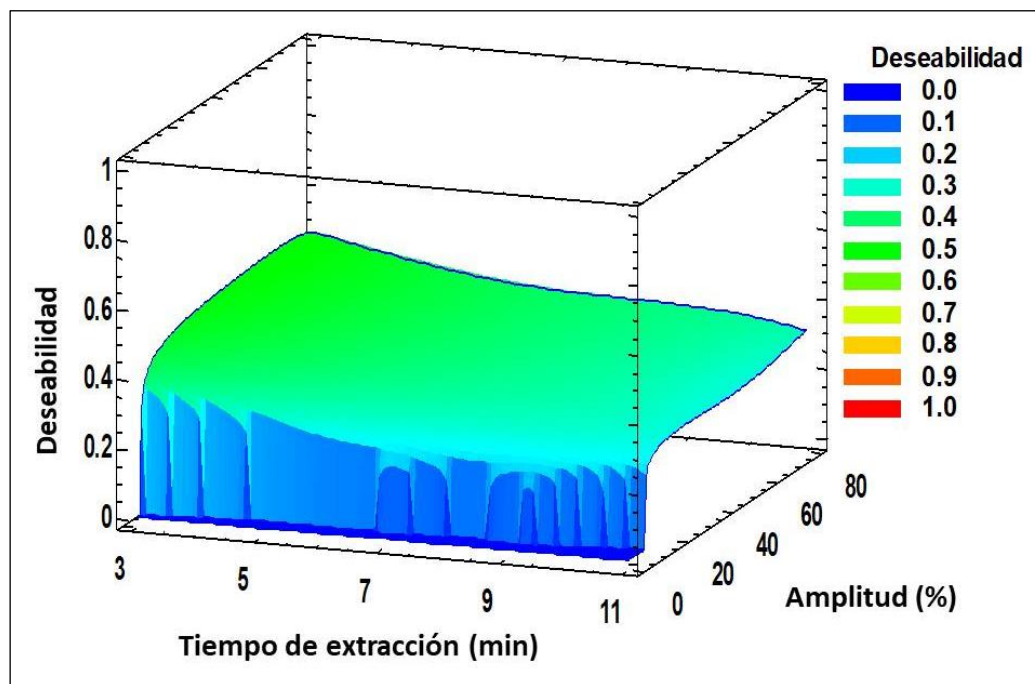


FIGURA 5-3 Superficie de respuesta del estudio de deseabilidad para la extracción asistida con ultrasonidos de epicarpio de aguacate var. Hass.

5.3.2 Optimización de la extracción de mesocarpio de aguacate asistida con ultrasonidos

La optimización de la extracción de mesocarpio de aguacate var. Hass asistida con ultrasonidos, se realizó con el modelo representado en la Ecuación 1. Con las mismas variables independientes y niveles descritos en el apartado. 5.3. Las variables dependientes fueron: Y_1 : DPPH, Y_2 : fenoles totales, Y_3 : ABTS, Y_4 : sólidos totales, Y_5 : pico 1, Y_6 : pico 2, Y_7 : pico 3, Y_8 : pico 4, Y_9 : pico 5 y Y_{10} : pico 6

Los coeficientes de regresión de la optimización de las 10 variables de respuesta se presentan en la Tabla 5-4.

Los tres factores ejercieron un efecto significativo positivo sobre la actividad antirradical de DPPH y ABTS, sólidos totales y el pico 3. El tiempo de extracción ejerció un efecto significativo negativo sobre los picos 1 y 2, contrario a lo observado por el efecto de la amplitud y el ciclo útil.

TABLA 5-4: Coeficientes de regresión de las 10 variables de respuesta seleccionadas para la optimización de la extracción de mesocarpio de aguacate var. Hass asistida con ultrasonidos.

Coeficiente	Y ₁	Y ₂	Y ₃	Y ₄	Y ₅	Y ₆	Y ₇	Y ₈	Y ₉	Y ₁₀
β_0	0.0153	0.0208	0.1152	0.1298	0.0164	0.0083	-0.0148	0.0321	0.0542	-0.0237
β_1	0.0011	0.0066	0.0073	0.0191	-0.0005	-0.0020	0.0006	0.0106	0.0115	0.0105
β_2	0.0001	0.0006	0.0005	0.0017	0.0000	-0.0001	0.0008	-0.0018	-0.0009	0.0003
β_3	0.0099	-0.0006	0.0453	0.0734	-0.0289	0.0183	0.0378	0.0259	-0.0632	-0.0540
β_{11}	-0.0001	-0.0005	-0.0007	-0.0004	0.0001	0.0001	0.0001	-0.0007	-0.0009	-0.0007
β_{12}	0.0000	0.0000	0.0000	-0.0005	0.0000	0.0000	0.0000	0.0002	0.0001	0.0000
β_{13}	0.0000	0.0032	0.0033	0.0214	0.0016	-0.0010	-0.0022	-0.0101	0.0049	0.0018
β_{22}	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
β_{23}	0.0001	0.0007	0.0001	0.0027	0.0003	0.0001	-0.0002	0.0019	0.0024	0.0013
β_{33}	-0.0079	-0.0161	-0.0566	-0.1906	0.0092	-0.0144	-0.0052	0.0079	0.0101	0.0398

El tiempo de extracción y la amplitud de onda presentaron un efecto significativo positivo sobre el contenido de fenoles totales podemos observar que los factores de. El tiempo y ciclo útil correlacionan de manera negativa para (Y_8) el área del metabolito 4. El tiempo de extracción correlacionó de forma positiva con el pico 5 y finalmente el ciclo útil correlacionó negativamente con el pico 6 (Tabla 8-2 del Anexo 2). La amplitud de onda ejerció efecto significativo ($p \leq 0.05$) sobre DPPH, fenoles totales, sólidos totales y los picos 1, 4, 5 y 6 con el mismo valor de 70 %. El ciclo útil no mostró efecto significativo sobre ABTS y el pico 2, con un ciclo útil de 0.64 y 0.58 respectivamente, en relación al resto de las respuestas con valor óptimo de 0.9 s/s.

Para obtener las condiciones de extracción más adecuadas, se minimizaron las respuestas de los picos 4 y 5, ya que éstas se correlacionaron de forma negativa con respecto a la actividad antioxidante DPPH, el resto de las variables fueron maximizadas debido a su correlación positiva con la actividad antioxidante.

Para la extracción global se seleccionaron 6 metabolitos (Figura 8-11 del Anexo 3). El estudio de deseabilidad mostró que el tiempo de extracción más adecuado fue de 3 min, el valor óptimo de amplitud de onda fue de 69.97 % y el de ciclo útil fue 0.85 s/s. El gráfico de deseabilidad se muestra en la Figura 5-4.

Los gráficos de superficie de respuesta para cada una de las variables se encuentran en la Figura 8-19 del Anexo 4.

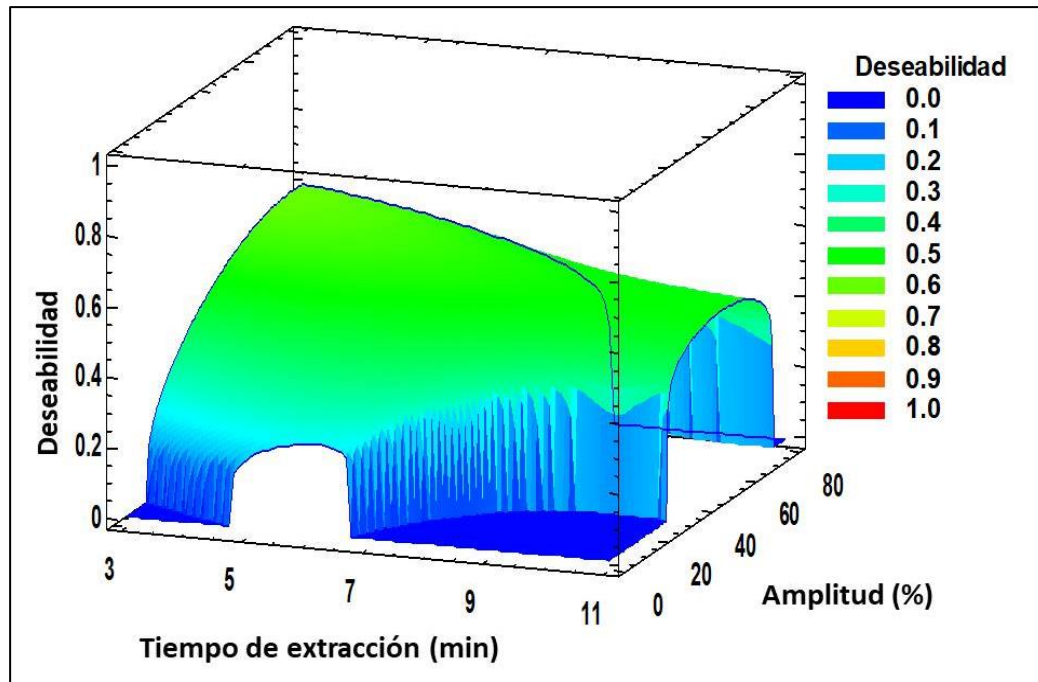


FIGURA 5-4 Superficie de respuesta del estudio de deseabilidad para la extracción asistida con ultrasonidos de mesocarpio de aguacate var. Hass.

5.3.3 Optimización de la extracción de semilla de aguacate asistida con ultrasonidos

La optimización de la extracción de semilla de aguacate var. Hass se realizó con ayuda del modelo descrito en la ecuación 1 con las mismas variables y niveles descritos en el apartado 5.3. Los coeficientes de regresión se presentan en la Tabla 5-5.

La amplitud y el ciclo útil presentaron un efecto significativo positivo sobre la actividad antirradical de DPPH, el caso contrario se observó con el efecto del tiempo, que la afecta significativamente de manera negativa. La interacción amplitud-ciclo útil y los efectos cuadráticos del tiempo y de la amplitud afectan significativamente de manera negativa al valor de DPPH.

TABLA 5-5: Coeficientes de regresión de las 14 variables de respuesta seleccionadas para la optimización de la extracción de semilla de aguacate var. Hass asistida con ultrasonidos.

Coeficiente	Y ₁	Y ₂	Y ₃	Y ₄	Y ₅	Y ₆	Y ₇	Y ₈	Y ₉	Y ₁₀	Y ₁₁	Y ₁₂	Y ₁₃	Y ₁₄
β_0	1.2984	0.4706	8.4421	0.2422	0.0303	-0.0126	0.0119	0.0119	0.1335	0.0951	0.0814	-0.1525	0.0200	0.0274
β_1	-0.0003	0.1304	-0.3758	-0.0016	-0.0100	0.0055	-0.0019	-0.0019	0.0569	0.0253	0.0095	0.2434	-0.0033	-0.0016
β_2	0.0186	0.0188	0.1138	0.0094	0.0010	-0.0006	0.0001	0.0001	-0.0031	0.0159	0.0100	0.0328	0.0011	0.0016
β_3	0.1256	0.0427	-2.9949	0.1582	0.0166	0.0393	0.0012	0.0012	-0.3864	0.4010	0.1882	0.5851	0.0451	0.0446
β_{11}	-0.0047	-0.0055	-0.0064	-0.0010	0.0010	-0.0004	0.0003	0.0003	-0.0036	-0.0021	-0.0011	-0.0171	0.0008	0.0003
β_{12}	0.0008	-0.0008	0.0022	0.0001	-0.0001	0.0000	0.0000	0.0000	-0.0002	-0.0001	0.0000	-0.0012	-0.0002	-0.0001
β_{13}	0.0251	-0.0111	0.3979	0.0136	-0.0016	0.0006	-0.0006	-0.0006	-0.0038	0.0086	0.0105	0.0707	0.0010	0.0015
β_{22}	-0.0002	-0.0002	-0.0014	-0.0001	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	-0.0002	-0.0001	-0.0002	0.0000	0.0000
β_{23}	-0.0128	-0.0018	-0.0381	-0.0059	-0.0002	0.0002	0.0002	0.0002	0.0045	-0.0040	-0.0036	-0.0102	0.0001	-0.0005
β_{33}	0.2183	0.4296	2.0561	0.0422	-0.0032	-0.0509	-0.0057	-0.0057	0.1469	-0.1521	-0.0398	-0.0810	-0.0524	-0.0238

En el caso de los fenoles totales, los factores presentaron un efecto significativo positivo, en caso contrario a las interacciones, ya que presentaron un efecto significativo negativo. En lo que respecta a la variable ABTS, el tiempo y el ciclo útil mostraron un efecto significativo negativo. De la misma manera que en el caso de la extracción de epicarpio, las variables que mostraron un efecto significativo positivo sobre el contenido de sólidos totales fueron la amplitud y el ciclo útil.

En cuanto a los efectos del resto de las variables que corresponden a los picos seleccionados en los cromatogramas (Figura 8-12 del Anexo 3), las tres variables de extracción mostraron un efecto significativo negativo sobre los picos 6, 7 y 8. El tiempo de extracción presentó efecto significativo negativo en comparación con la amplitud y ciclo útil sobre los picos 1, 3, 9 y 10; pero el efecto fue positivo sobre el pico 5. La amplitud mostró un efecto negativo, caso contrario al tiempo y ciclo útil sobre el pico 2. La amplitud de onda ejerció un efecto significativo ($p \leq 0.05$) sobre los picos 2, 4, 9 y 10. El ciclo útil mostró efecto significativo sobre DPPH, fenoles totales, sólidos totales y los picos 6, 7 y 8 con 0.9 s/s; el ABTS y los picos 1, 3 y 5 son significativamente diferentes con 0.1%, las variables que no son significativamente diferentes fueron los picos 2, 4, 9 y 10.

Para obtener las condiciones de extracción más adecuadas mediante el análisis de deseabilidad, las variables DPPH, fenoles totales, ABTS, sólidos totales, y los picos 5, 6, 7 y 8 fueron maximizadas, ya que correlacionaron de forma positiva con la actividad antioxidante DPPH; por otro lado, los picos 1, 2, 3, 4, 9 y 10 fueron minimizados ya que éstos influyeron de forma negativa sobre la actividad antioxidante DPPH (Tabla 8-3 del Anexo 2).

El tiempo de extracción más adecuado, de acuerdo con el estudio de deseabilidad, fue de 6.24 min, el valor óptimo de amplitud de onda de 28.49 % y el de ciclo útil de 0.9 s/s. El gráfico de deseabilidad se muestra en la Figura 5-5.

Los gráficos de superficie de respuesta para cada una de las variables se encuentran en la Figura 8-20 del Anexo 4.

En el caso del tegumento, debido a que su textura es más parecida a la del epicarpio que a la del mesocarpio o semilla, se utilizaron las mismas variables de extracción del epicarpio.

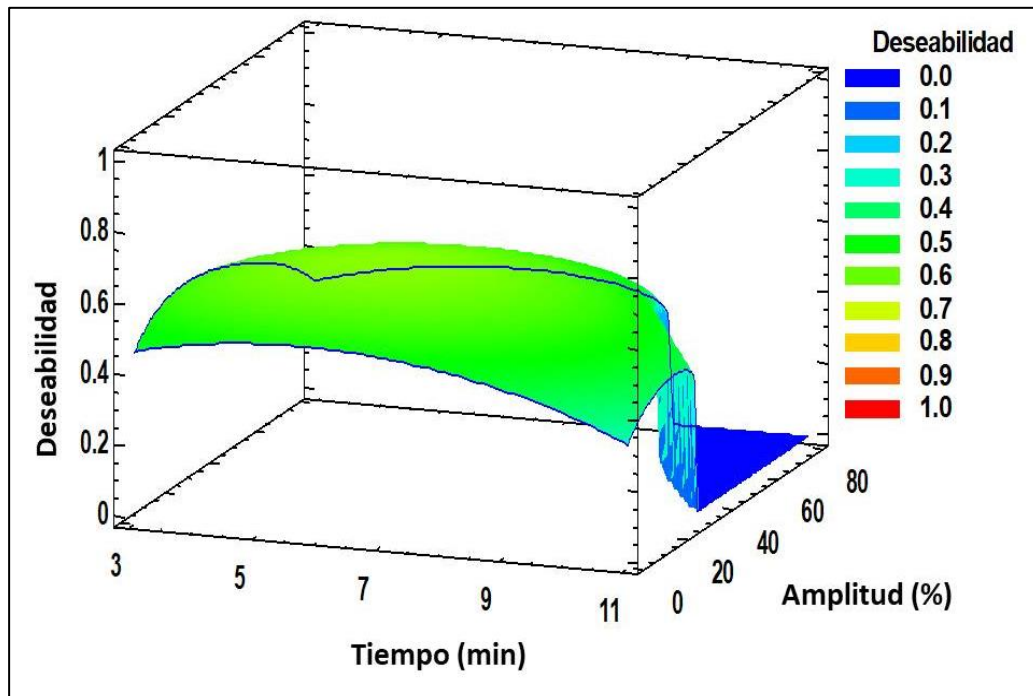


FIGURA 5-5 Superficie de respuesta del estudio de deseabilidad para la extracción asistida con ultrasonidos de semilla de aguacate var. Hass.

Los resultados indican que para obtener una mayor actividad antirradical a partir de extractos de epicarpio y mesocarpio se debe utilizar el tiempo de extracción más corto con un valor alto de amplitud de onda, mientras que en el caso de extractos de semilla, se requiere cerca del factor medio utilizado con una amplitud de onda menor a los otros dos tejidos.

La Tabla 5-6 muestra los valores que se obtendrían de cada una de las variables de respuesta al usar las condiciones óptimas.

TABLA 5-5: Respuestas estimadas para los valores ideales de extracción con ultrasonidos de las diferentes fracciones morfológicas de aguacate.

Respuesta estimada	Epicarpio	Mesocarpio	Semilla
Sólidos totales	0.422	0.45	0.507
Fenoles totales	2.657	0.087	1.601
DPPH	1.610	0.026	1.689
ABTS	12.494	0.132	8.583
Pico 1	0.067	0.015	0.022
Pico 2	0.007	0.007	0.002
Pico 3	0.007	0.025	0.009
Pico 4	2.604	0.098	0.03
Pico 5	2.239	0.141	0.096
Pico 6	1.202	0.064	0.657
Pico 7	0.465		0.407
Pico 8	1.325		1.826
Pico 9	0.054		0.042
Pico 10	0.035		0.072

5.4 Optimización de las extracciones asistidas con microondas

Como en el caso de la extracción asistida con ultrasonidos, se optimizaron al menos 9 variables de respuesta mediante superficie de respuesta usando un modelo cuadrático (Ecuación 2) cuyas variables independientes fueron X_1 = ciclos de irradiación (5, 10 y 15; 30 s/30s) y X_2 = potencia (10, 55 y 100 W).

5.4.1 Optimización de la extracción de epicarpio de aguacate asistida con microondas

Los coeficientes de regresión obtenidos de la optimización de las 9 variables de respuesta Y_1 : DPPH, Y_2 : fenoles totales, Y_3 : ABTS, Y_4 : sólidos totales, Y_5 : pico 1, Y_6 : pico 2, Y_7 : pico 3, Y_8 : pico 4 y Y_9 : pico 5 en extractos de epicarpio de aguacate var. Hass se presentan en la Tabla 5-7. En la Figura 8-13 del Anexo 3 se pueden observar los picos seleccionados para el análisis.

TABLA 5-6: Coeficientes de regresión de las 9 variables de respuesta seleccionadas para la optimización de la extracción de epicarpio de aguacate var. Hass asistida con microondas.

Coeficiente	β_0	β_1	β_2	β_{11}	β_{12}	B_{22}
Y_1	2.30542	0.05569	0.00764	-0.00157	-0.00027	-0.00003
Y_2	2.73882	-0.313364	0.0654539	0.0154288	-9.87E-05	-0.0004709
Y_3	7.3624	-0.111787	0.105079	0.0167681	-0.00103507	-0.00049837
Y_4	0.211037	0.0126791	0.00523458	-0.00020561	-1.54E-05	-2.30E-05
Y_5	0.426382	0.571561	0.0822659	-0.0297726	-0.00075891	-0.00053172
Y_6	-0.869676	0.906465	0.121401	-0.0440229	-0.00301703	-0.00074234
Y_7	-0.0004749	0.266714	0.0374866	-0.0138215	-0.00028945	-0.00024558
Y_8	0.368242	0.281606	0.0317985	-0.0134102	0.00014591	-0.00016874
Y_9	0.228914	0.00078714	0.00144025	-0.00018466	-6.46E-05	-9.52E-06

Los ciclos de irradiación y la potencia tuvieron un efecto significativo positivo sobre las variables DPPH, sólidos totales y los picos 1, 2, 3, 4 y 5. Los ciclos de irradiación mostraron efecto significativo negativo y la potencia efecto positivo sobre las variables fenoles totales y ABTS. La potencia ejerció efecto significativo, con un nivel de confianza del 95.0 %, sobre todas las variables.

En el análisis de optimización de respuestas múltiples mediante el modelo de deseabilidad para obtener las condiciones de extracción más adecuadas, todas las variables correlacionaron positivamente con la actividad antioxidante, excepto el pico 5 que correlacionó de forma negativa, por lo que esta variable fue minimizada (Tabla 8-4 del Anexo 5).

El análisis basado en las 9 variables de respuesta, indicó que el valor más adecuado de ciclos de irradiación fue de 10.93 y el de potencia de 79.17 %. El gráfico de deseabilidad se observa en la Figura 5-6. Las superficies de respuesta de la optimización de cada variable se observa en la Figura 8-21 del Anexo 6.

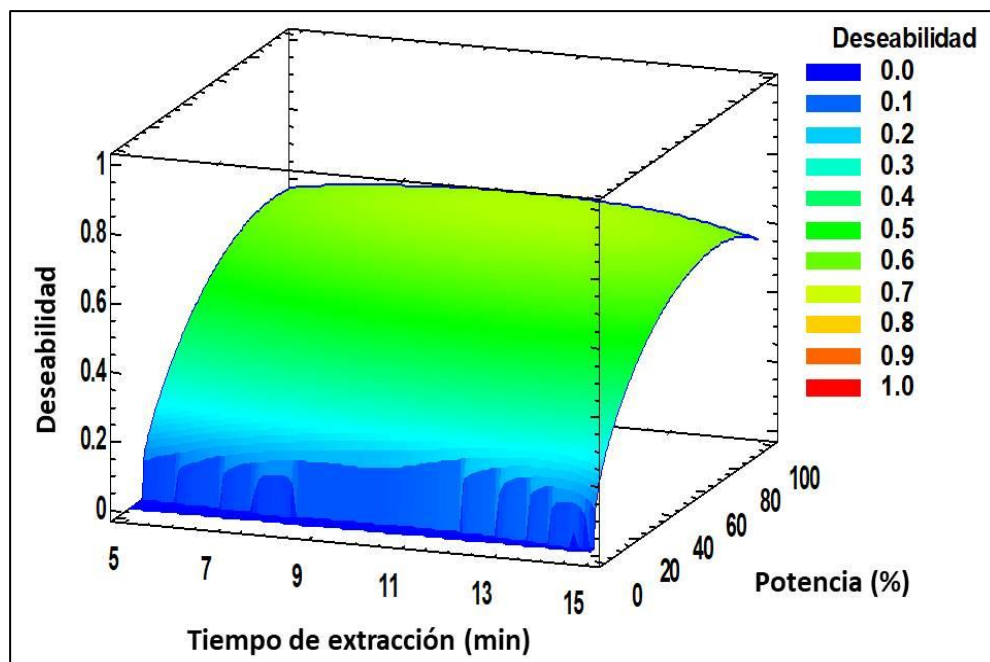


FIGURA 5-6 Superficie de respuesta del estudio de deseabilidad para la extracción asistida con microondas de epicarpio de aguacate var. Hass.

5.4.2 Optimización de la extracción de mesocarpio de aguacate asistida con microondas

La optimización del método de extracción de mesocarpio de aguacate variedad Hass, asistido con microondas, se realizó, como en los casos anteriores, por medio del modelo representado por la ecuación 2. Las 11 variables de respuesta analizadas fueron Y_1 : DPPH, Y_2 : fenoles totales, Y_3 : ABTS, Y_4 : sólidos totales, Y_5 : pico 1, Y_6 : pico 2, Y_7 : pico 3, Y_8 : pico 4, Y_9 : pico 5, Y_{10} : pico 6 y Y_{11} : pico 7. Los valores de los parámetros se observan en la Tabla 5-8.

Las dos variables de extracción mostraron efecto significativo positivo sobre DPPH, fenoles totales, ABTS, sólidos totales y los picos 2 y 8. El ciclo útil ejerció efecto significativo en forma negativa sobre los picos 1 y 7; tanto la potencia como el ciclo de irradiación mostraron efecto significativo negativo sobre los picos 3, 4 y 5.

Para obtener las condiciones de extracción más adecuadas mediante el análisis de optimización de respuestas múltiples, se minimizó el efecto sobre el pico

5 porque fue la única respuesta que correlacionó negativamente sobre la actividad antioxidante DPPH (Tabla 8-5 del Anexo 5), el resto de las variables fueron maximizadas.

El análisis basado en las 11 variables de respuesta, mostró que el valor más adecuado es de 15 ciclos de irradiación y potencia de 90.76 % (Figura 5-7).

Los valores óptimos para cada variable de respuesta se pueden observar en la Figura 8-22 del Anexo 6.

TABLA 5-7: Coeficientes de regresión de las 11 variables de respuesta seleccionadas para la optimización de la extracción de mesocarpio de aguacate var. Hass asistida con microondas.

Coeficiente	β_0	β_1	β_2	B_{11}	β_{12}	B_{22}
Y_1	0.0114	0.00215	0.000245	-0.000103	-2.65E-07	-9.24E-07
Y_2	-0.00645	0.01453	0.00056	-0.00074	0.000062	-0.000007
Y_3	0.159842	0.003969	0.000347	-0.000161	0.00000035	0.00000029
Y_4	-0.25621	0.09637	0.00371	-0.00534	0.00043	-0.000042
Y_5	0.13106	-0.0152	0.00276	0.00062	-0.0000024	-0.000023
Y_6	0.007631	0.000793	0.000049	-0.000027	0.00000008	-0.00000034
Y_7	0.009971	-0.000399	-0.000026	0.0000209	0.00000213	0.00000032
Y_8	0.05218	-0.00395	-0.000085	0.000175	-0.0000016	0.00000097
Y_9	1.40408	-0.10403	-0.00317	0.00525	-0.00027	-0.00000636
Y_{10}	0.3116	-0.043274	0.011725	0.002336	0.00000002	-0.000079
Y_{11}	-0.0000086	0.0189049	0.0071361	-0.0008034	0.000053	-0.0000438

5.4.3 Optimización de la extracción de semilla de aguacate asistida con microondas

La optimización de la extracción de semilla de aguacate var. Hass, asistida con microondas, se realizó como se ha descrito previamente por medio de la ecuación 2. Los coeficientes de regresión de las 12 variables de respuesta Y_1 : DPPH, Y_2 : fenoles totales, Y_3 : ABTS, Y_4 : sólidos totales, Y_5 : pico 1, Y_6 : pico 2, Y_7 : pico 3, Y_8 : pico 4, Y_9 : pico 5, Y_{10} : pico 6, Y_{11} : pico 7 y Y_{12} : pico 8, se observan en la Tabla 5-9.

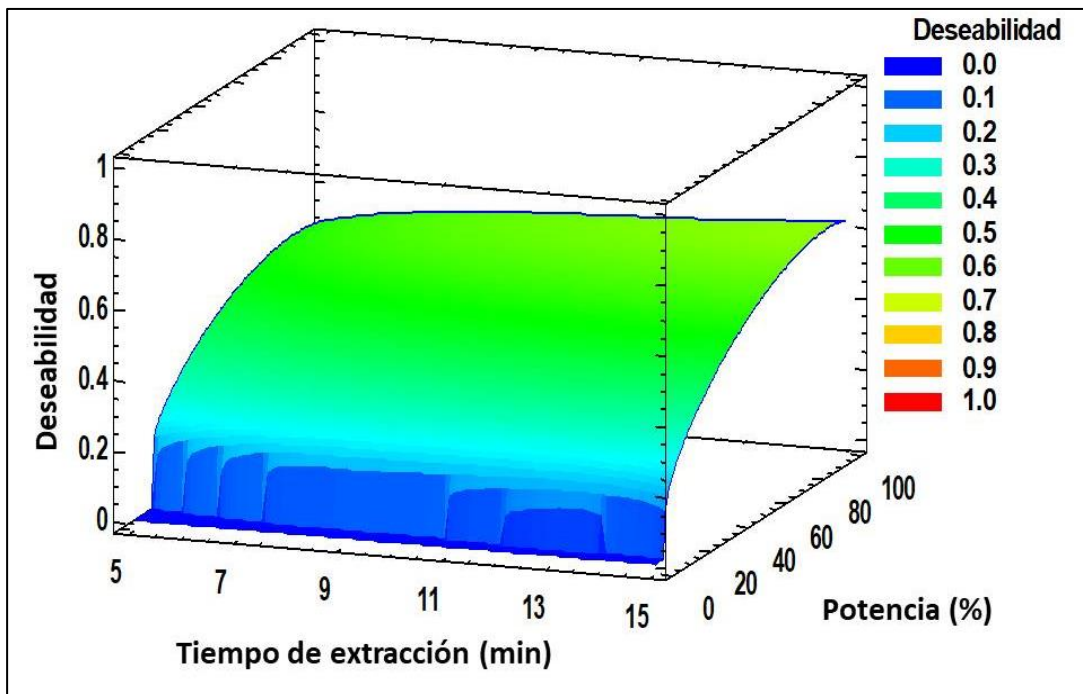


FIGURA 5-7 Superficie de respuesta del estudio de deseabilidad para la extracción asistida con microondas de mesocarpio de aguacate var. Hass.

TABLA 5-8: Coeficientes de regresión de las 12 variables de respuesta estudiadas para la optimización de la extracción de semilla de aguacate var. Hass asistida con microondas.

Coeficiente	β_0	β_1	β_2	B_{11}	β_{12}	B_{22}
Y_1	0.42398	0.31193	-0.00253	-0.01406	4.33E-05	9.02E-05
Y_2	0.47409	0.0274	-0.00104	0.00108	-0.000094	0.00008
Y_3	4.19126	0.11282	-0.00238	0.00062	0	0.00024
Y_4	0.04003	0.02674	0.00151	-0.00044	0.000013	0.000014
Y_5	0.00541	0.00517	0.00046	-0.00008	0.000019	-0.0000021
Y_6	0.00082	0.01053	0.00011	-0.00043	2.39E-05	2.48E-06
Y_7	-0.08537	0.01987	0.01637	0.00204	-0.000578	-5.33E-05
Y_8	0.12225	-0.00664	0.00422	0.00175	-6.01E-05	-3.89E-06
Y_9	-0.48509	0.20448	0.00679	-0.00624	-0.000272	3.44E-05
Y_{10}	0.29679	-0.01642	0.00388	0.00111	-0.000105	-2.56E-05
Y_{11}	0.01667	0.00131	0.00071	0.00014	-2.68E-05	-9.76E-07
Y_{12}	0.01513	0.00111	0.00022	0.0001	-2.18E-05	2.36E-06

Los dos factores de extracción mostraron efecto significativo positivo sobre los sólidos totales y los picos 1, 2, 3, 5 y 8. El ciclo útil ejerció efecto significativo en forma negativa con respecto a los picos 4 y 6, mientras que la potencia lo hizo sobre la actividad antirradical (DPPH y ABTS) y el contenido de compuestos fenólicos.

Todas las variables correlacionaron positivamente con la actividad antirradical (Tabla 8-6 del Anexo 5), por lo que todas fueron maximizadas.

El análisis global de deseabilidad mostró que el valor más adecuado de ciclos de irradiación fue de 15 y en el caso de la potencia, el valor óptimo fue de 100 % (Figura 5-8).

Las variables fenoles totales, ABTS, sólidos totales y los picos 1, 4, 7 y 8, no fueron significativamente diferentes con un nivel de confianza del 95.0 %, obteniéndose las mismas condiciones de extracción que en el análisis global. Los valores óptimos de cada variable de respuesta se observan en la Figura 8-23 del Anexo 6.

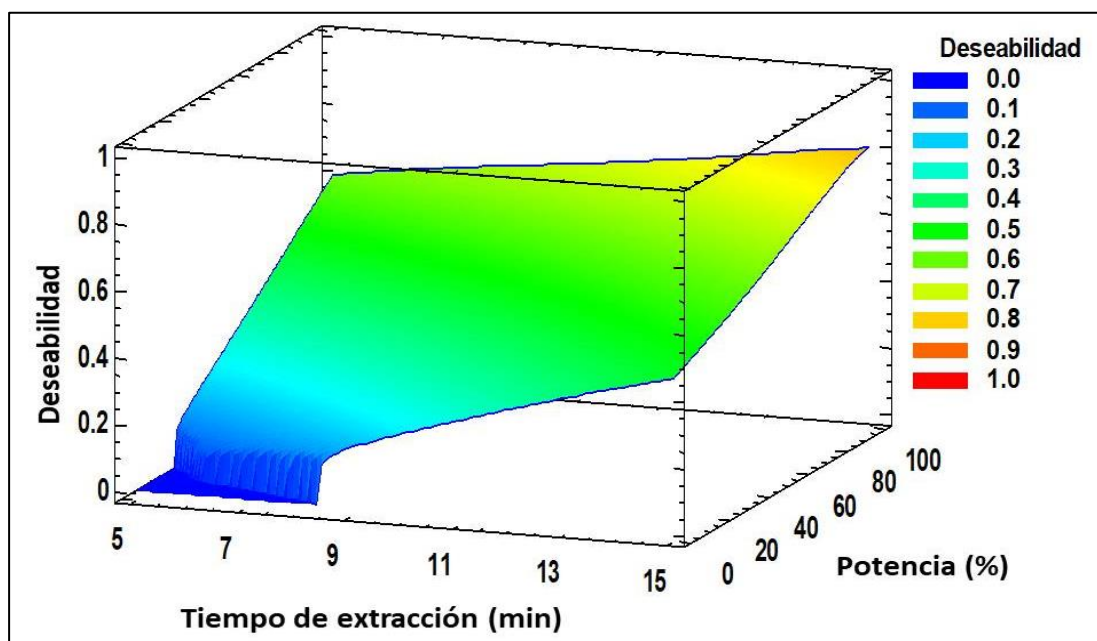


FIGURA 5-8 Superficie de respuesta del estudio de deseabilidad para la extracción asistida con microondas de semilla de aguacate var. Hass.

La extracción de tegumento, asistida con microondas, se realizó a los mismos valores que los calculados para epicarpio.

La Tabla 5-10 muestra los valores predichos de las variables a las condiciones deseables u óptimas calculadas con el modelo.

TABLA 5-9: Respuestas estimadas para los valores ideales de extracción con microondas de las diferentes fracciones morfológicas de aguacate.

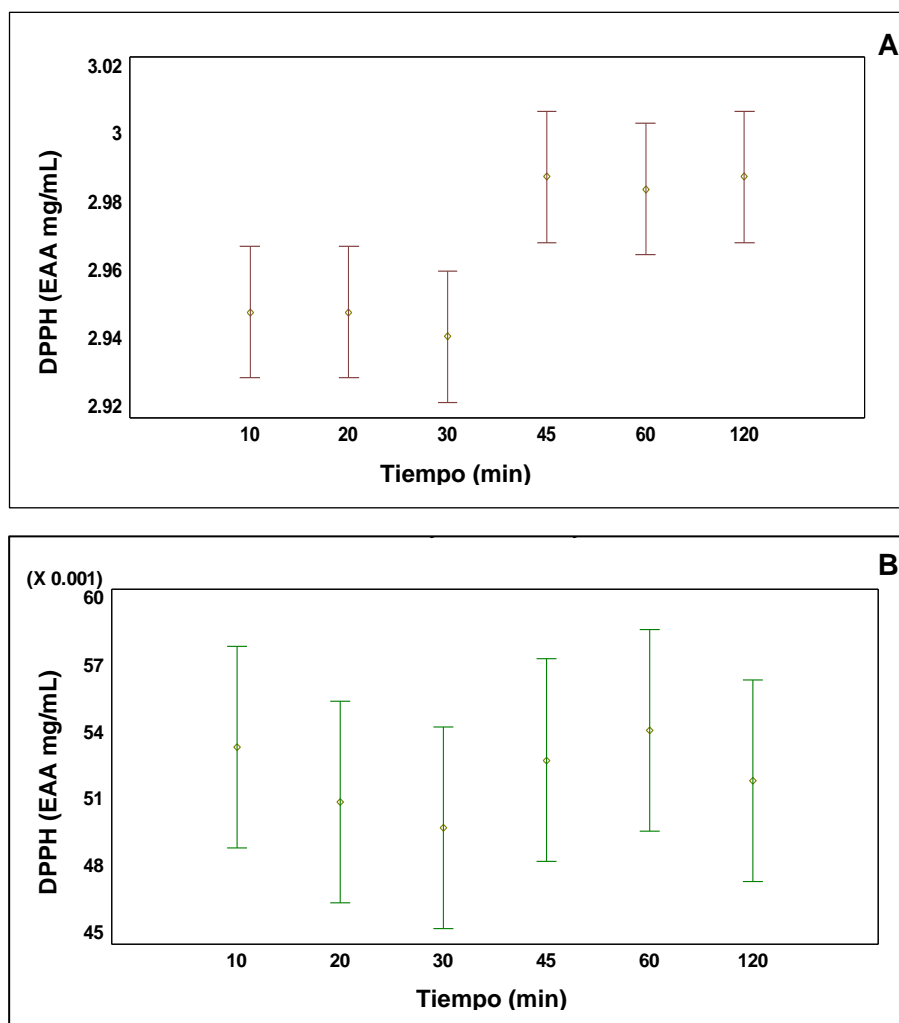
Extracción con microondas			
Respuesta estimada	Epicarpio	Mesocarpio	Semilla
Sólidos totales	0.582	0.564	0.658
Fenoles totales	3.302	0.117	1.725
DPPH	2.915	0.035	2.655
ABTS	12.443	0.218	8.239
Pico 1	5.64	0.099	0.119
Pico 2	6.127	0.015	0.133
Pico 3	2.442	0.012	0.908
Pico 4	3.43	0.03	0.71
Pico 5	0.214	0.312	1.793
Pico 6		0.597	0.276
Pico 7		0.461	0.09
Pico 8			0.067

5.5 Extracción de fracciones fisiológicas de aguacate por maceración con agitación

En las extracciones por maceración, se buscó el tiempo más adecuado de extracción en función de la actividad antirradical por DPPH.

En la Figura 5-9 (A) se observa el efecto del tiempo de extracción de epicarpio de aguacate var. Hass sobre la actividad antioxidante, puede apreciarse que hasta los 30 min, no hay diferencias significativas, así como tampoco a partir de 45 min. El análisis de varianza mostró una razón-F = 10.9395 (cociente entre el estimado entre-grupos y el estimado dentro-de-grupos) con un valor-P < 0.05, indicando que existe diferencia significativa de la media de DPPH entre un nivel de t y otro. En lo que

respecta a la extracción de mesocarpio (Figura 5-9 B), el valor P (0.4858) de la razón F (1.00828) no fue significativo, indicando que al primer tiempo analizado ya se había obtenido toda la actividad antirradical alcanzable bajo las condiciones de estudio. En el caso de la semilla, si se observó un efecto significativo en el tiempo de extracción, la razón F (15.3962) presentó un valor P = 0.0023, indicando diferencia significativa de la media de DPPH entre un nivel de tiempo y otro.



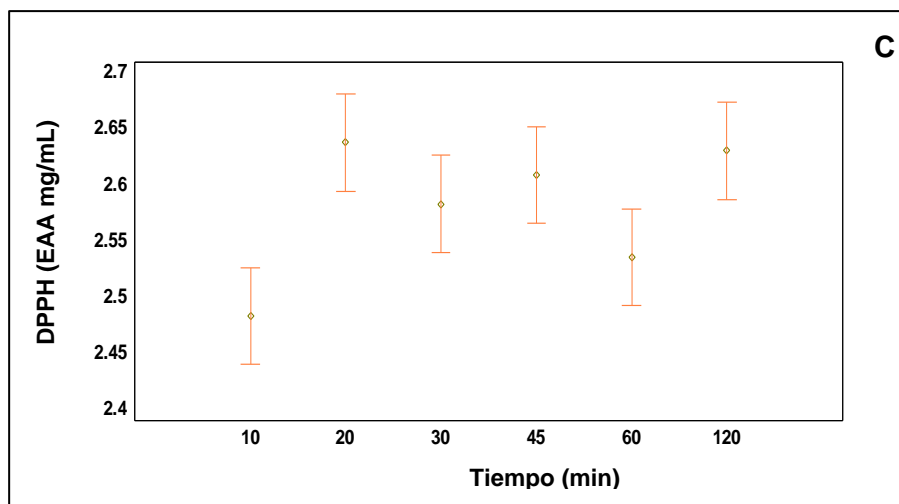


FIGURA 5-9 Efecto del tiempo de extracción de epicarpio (A), mesocarpio (B) y semilla de aguacate (C) var. Hass por maceración con agitación en etanol:agua (80:20) sobre el valor de DPPH en los extractos (\bar{X} en los extractos HSD).

En función de los resultados anteriores, se establecieron como adecuados, los tiempos mostrados en la Tabla 5-13.

TABLA 5-11: Tiempo de extracción (por maceración con agitación en etanol:agua 80:20) más adecuado para cada fracción morfológica de aguacate.

Valores ideales para la extracción con agitación	
Muestra	Tiempo (min)
Epicarpio	45
Mesocarpio	60
Semilla	20

De forma similar a los otros métodos de extracción, se estableció que el tiempo de extracción para el tegumento sería el mismo que el calculado para el epicarpio.

Las diferencias encontradas en los extractos obtenidos por los diferentes métodos de extracción están íntimamente relacionadas el principio del método de extracción. Ma *et al.* (2008) compararon la extracción asistida con ultrasonidos y la

extracción con maceración sobre el contenido de compuestos fenólicos, mostrando que la extracción asistida por ultrasonidos genera rendimientos más altos en tiempos más cortos, comparada con la extracción convencional. La extracción asistida con ultrasonidos mejora la eficiencia y reduce el tiempo de procesamiento, además de que puede realizarse a temperaturas bajas que son favorables para los compuestos inestables al calor. De acuerdo a la literatura, estos efectos pueden ser explicados por la cavitación generada por la aplicación de ondas de ultrasonido, ya que la amplitud de onda ultrasónica es proporcional al tamaño de la burbuja de cavitación formada, así como la intensidad de colapso de ésta (Li *et al.*, 2004).

En el caso de la extracción asistida por microondas, la irradiación de microondas causa movimiento de moléculas por migración de iones y rotación de dipolos, que contribuyen a una rápida transferencia de energía y materia al solvente (Gao, 2005). Las microondas penetran en la muestra calentando instantáneamente los compuestos polares presentes en ella, incluida el agua, la cual genera micro explosiones de vapor que rompen el tejido celular facilitando la transferencia de masa hacia el disolvente, lo que permite obtener extractos en menor tiempo que los métodos tradicionales basados en la conductividad térmica, sin embargo, la irradiación con microondas puede acelerar la degradación de algunos metabolitos (Zhang *et al.*, 2011).

5.6 Efecto del método de extracción en las fracciones morfológicas de las tres variedades de aguacate.

5.6.1 Efecto del método de extracción sobre las variables de respuesta: aguacate var. Fuerte.

Como se mencionó en la metodología, después de realizar la optimización de los métodos de extracción sobre cada tejido, estas condiciones se usaron para la obtención de nuevos extractos de las tres variedades. Estos nuevos extractos se realizaron con las condiciones más adecuadas presentadas anteriormente para cada fracción morfológica.

Los resultados de compuestos fenólicos se expresan en equivalentes de ácido gálico, los de actividad antirradical por DPPH y ABTS en equivalentes de ácido ascórbico y en porcentaje de inhibición.

La Tabla 5-12 describe las características del extracto obtenido por la asistencia de ultrasonidos, a las condiciones óptimas para cada fracción morfológica. El tejido que mostró el mayor contenido de fenoles totales y actividad antirradical fue la semilla. El contenido de fenoles totales fue prácticamente el mismo entre semilla y tegumento, y de igual forma entre epicarpio y mesocarpio. El tejido con mayor actividad antirradical por DPPH, fue la semilla, seguido del tegumento, por ABTS después de la semilla, el mesocarpio y el tegumento mostraron el mismo porcentaje de actividad.

Un patrón similar fue observado en los extractos obtenidos con asistencia de microondas (Tabla 5-12), los extractos de semilla y tegumento mostraron mayor porcentaje de actividad antirradical que los extractos de mesocarpio. En ambos extractos, en los obtenidos con la asistencia de ultrasonidos y con microondas, la menor actividad antirradical se observó en los extractos de epicarpio, sin embargo, se encontró un mayor contenido de fenoles en estos extractos, que en los extractos de mesocarpio, lo que quiere decir que la actividad antirradical en mesocarpio es debida a compuestos de naturaleza no fenólico. La mayor actividad antirradical se observó en los extractos obtenidos por microondas.

Wang *et al.*, en 2010, evaluaron la capacidad antioxidante de extractos de mesocarpio, semilla y epicarpio de 7 variedades de aguacate obtenidos por maceración con agitación, y encontraron que las semillas presentaban el mayor contenido de compuestos fenólicos y actividad antioxidante (DPPH) en todas las variedades del fruto, lo que coincide con los resultados obtenidos en este estudio.

5.6.2 Efecto del método de extracción sobre las variables de respuesta: aguacate var. Hass.

Las características de los extractos obtenidos por los diferentes métodos se muestran en la Tabla 5-13. El extracto de epicarpio fue el que mostró mayor contenido de compuestos fenólicos y mayor actividad antioxidante por DPPH y ABTS en los tres métodos de extracción ultrasonidos, microondas y agitación, por lo que se concluye que para el aprovechamiento de este residuo se puede usar cualquier método de extracción, ya que en los tres muestran el mismo rendimiento.

Los resultados obtenidos en este trabajo coinciden con lo reportado por Rodríguez-Carpena *et al.* (2011), quienes realizaron un estudio sobre la actividad antioxidante (DPPH y ABTS) de extractos de epicarpio, mesocarpio y semilla de las variedades Fuerte y Hass, sus resultados mostraron que los extractos de epicarpio y semilla tenían cantidades más altas de compuestos fenólicos y un potencial antirradical *in vitro* más intenso que los extractos de mesocarpio.

TABLA 5-10: Efecto del método de extracción con etanol:agua (80:20) sobre el contenido de sólidos y fenoles totales y actividad antirradical, de extractos de fracciones morfológicas de aguacate var. Fuerte.

Extractos obtenidos con la asistencia de ultrasonidos									
Muestra	Tiempo	Amplitud	Ciclo útil	Sólidos totales	Fenoles totales	DPPH		ABTS	
	(min)	%	s/s	%	mg/mL	mg/mL	%	mg/mL	%
Epicarpio	3	63	0.3	0.134	0.011	0.300	11.397	0.313	1.276
Mesocarpio	3	70	0.9	0.289	0.009	0.033	12.199	0.047	4.204
Semilla	6.2	28	0.9	0.189	0.056	0.361	12.944	0.488	4.579
Tegumento	3	63	0.3	0.124	0.047	0.345	12.543	0.468	4.204
Extractos obtenidos con la asistencia de microondas									
	Ciclos de irradiación	Potencia	Sólidos totales	Fenoles totales	DPPH		ABTS		
	(30 s/ 30 s)	(W)	%	mg/mL	mg/mL	%	mg/mL	%	
Epicarpio	10.3	80	0.162	0.0288	0.309	11.627	0.369	2.327	
Mesocarpio	15	90	0.353	0.0237	0.037	13.116	0.064	7.432	
Semilla	15	100	0.231	0.152	0.586	18.614	0.925	12.838	
Tegumento	10.3	80	0.227	0.161	0.581	18.499	0.938	13.138	
Extractos obtenidos por maceración con agitación									
	Tiempo	Sólidos totales	Fenoles totales	DPPH		ABTS			
	(min)	%	mg/mL	mg/mL	%	mg/mL	%		
Epicarpio	45	0.153	0.018	0.252	10.195	0.385	2.627		
Mesocarpio	60	0.328	0.009	0.032	11.970	0.058	6.381		
Semilla	20	0.168	0.063	0.413	14.261	0.582	6.381		
Tegumento	45	0.150	0.060	0.364	13.001	0.563	6.006		

TABLA 5-11: Efecto del método de extracción con etanol:agua (80:20) sobre el contenido de sólidos y fenoles totales y actividad antirradical, de extractos de fracciones morfológicas de aguacate var. Hass.

Extractos obtenidos con la asistencia de ultrasonidos									
Muestra	Tiempo	Amplitud	Ciclo útil	Sólidos totales	Fenoles totales	DPPH		ABTS	
	(min)	%	s/s	%	mg/mL	mg/mL	%	mg/mL	%
Epicarpio	3	63	0.3	0.151	0.767	1.511	40.495	2.661	44.913
Mesocarpio	3	70	0.9	0.149	0.033	0.016	4.320	0.078	10.610
Semilla	6.2	28	0.9	0.174	0.308	0.619	16.59	1.105	16.570
Tegumento	3	63	0.3	0.042	0.036	0.062	1.670	0.575	6.904
Extractos obtenidos con la asistencia de microondas									
	Ciclos de irradiación	Potencia	Sólidos totales	Fenoles totales	DPPH		ABTS		
	(30 s/ 30 s)	(W)	%	mg/mL	mg/mL	%	mg/mL	%	
Epicarpio	10.3	80	0.257	0.889	1.620	43.433	3.073	52.398	
Mesocarpio	15	90	0.200	0.038	0.024	6.452	0.092	13.227	
Semilla	15	100	0.206	0.429	0.834	22.35	1.656	26.599	
Tegumento	10.3	80	0.015	0.072	0.116	3.111	0.782	10.683	
Extractos obtenidos por maceración con agitación									
	Tiempo	Sólidos totales	Fenoles totales	DPPH		ABTS			
	(min)	%	mg/mL	mg/mL	%	mg/mL	%		
Epicarpio	45	0.151	0.876	1.878	50.346	2.9649	50.436		
Mesocarpio	60	0.053	0.023	0.018	4.896	0.842	11.773		
Semilla	20	0.211	0.481	1.057	28.341	1.7518	28.343		
Tegumento	45	0.044	0.037	0.041	1.095	0.427	4.215		

5.6.3 Efecto del método de extracción sobre las variables de respuesta: aguacatillo.

En este apartado, se describen los resultados del análisis de los extractos de los tejidos del aguacate conocido como aguacatillo. No se han encontrado publicaciones con información sobre dicho fruto. Esta variedad de aguacate tiene una peculiar característica, ya que al igual que mesocarpio, el epicarpio también se puede consumir, otro concepto más para considerarse un fruto de importancia en este trabajo.

Los resultados de las características de los extractos obtenidos con las diferentes técnicas, se muestran en la Tabla 5-14. El extracto de semilla fue el que presentó mayor contenido fenólico y actividad antioxidante en comparación con el resto de los tejidos. En ese mismo contexto el mesocarpio ocupó el segundo lugar, el epicarpio el tercero y el tegumento el último lugar.

El contenido de fenoles totales del extracto de semilla, obtenido por microondas, fue de casi el doble en comparación con el del epicarpio; los extractos de mesocarpio y tegumento mostraron una concentración similar. Con respecto a la actividad antirradical, la evaluada por ABTS fue mayor que la evaluada por DPPH, salvo en los extractos de tegumento obtenidos con la asistencia de ultrasonidos y de microondas, y en lo que respecta al extracto de semilla, el porcentaje de inhibición fue más del doble que el obtenido con el extracto de epicarpio.

La concentración más alta de compuestos fenólicos se presentó en el extracto de mesocarpio obtenido por maceración con agitación, caso contrario a los extractos con ultrasonidos y microondas. Sin embargo, la semilla mostró concentraciones similares a los extractos de microondas y ultrasonidos, siendo el tejido con mayores propiedades antioxidantes.

TABLA 5-12: Efecto del método de extracción con etanol:agua (80:20) sobre el contenido de sólidos y fenoles totales y actividad antirradical, de extractos de fracciones morfológicas de aguacatillo.

Extractos obtenidos con la asistencia de ultrasonidos									
Muestra	Tiempo	Amplitud	Ciclo útil	Sólidos totales	Fenoles totales	DPPH		ABTS	
	(min)	%	s/s	%	mg/mL	mg/mL	%	mg/mL	%
Epicarpio	3	63	0.3	0.071	0.073	0.364	4.875	0.598	6.759
Mesocarpio	3	70	0.9	0.119	0.311	0.0455	7.134	0.092	13.009
Semilla	6.2	28	0.9	0.161	0.322	0.878	17.717	1.729	28.706
Tegumento	3	63	0.3	0.018	0.005	0.283	2.854	0.291	0.799
Extractos obtenidos con la asistencia de microondas									
	Ciclos de irradiación		Potencia	Sólidos totales	Fenoles totales	DPPH		ABTS	
	(30 s/ 30 s)		(W)	%	mg/mL	mg/mL	%	mg/mL	%
Epicarpio	10.3		80	0.122	0.186	0.586	10.404	1.055	15.625
Mesocarpio	15		90	0.124	0.01	0.048	7.788	0.087	12.064
Semilla	15		100	0.206	0.432	1.080	22.770	2.070	35.32
Tegumento	10.3		80	0.0357	0.013	0.426	6.421	0.3618	2.180
Extractos obtenidos por maceración con agitación									
	Tiempo			Sólidos totales	Fenoles totales	DPPH		ABTS	
	(min)			%	mg/mL	mg/mL	%	mg/mL	%
Epicarpio	45			0.111	0.174	0.626	11.415	1.059	15.698
Mesocarpio	60			0.051	0.489	0.032	3.865	0.064	7.631
Semilla	20			0.143	0.327	0.973	20.095	1.774	29.579
Tegumento	45			0.012	0.004	0.198	0.713	0.306	1.090

5.7 Comparación de los métodos de extracción mediante análisis global

Los extractos obtenidos a las condiciones determinadas como óptimas, se analizaron, además de las variables de respuesta analizadas en la sección 5.6, mediante LC-QTOF-MS/MS para realizar la comparación de los métodos de extracción mediante análisis global.

Después del tratamiento de datos obtenidos mediante espectrometría de masas, se obtuvo una matriz (1010x37) formada por las 1010 entidades moleculares encontradas en los extractos obtenidos con los tres métodos de extracción de las tres variedades de aguacate en epicarpio, una matriz de (613x37) de 613 entidades moleculares encontradas en mesocarpio, (513x37) con 513 entidades en semilla y una matriz (560x37) de 560 entidades moleculares en tegumento.

Para evaluar el efecto de cada uno de los métodos de extracción y de cada variedad de fruto en cada fracción morfológica, se realizaron pruebas de discriminación mediante el análisis de componentes principales (PCA).

5.7.1 Efecto del método de extracción y del tipo de tejido sobre los compuestos extraídos de las tres variedades

En la Figura 5-10 se presenta el análisis de componentes principales de las entidades moleculares obtenidas en el análisis de los extractos de las 4 fracciones morfológicas de las tres variedades obtenidos por las tres técnicas de extracción analizadas. En la Fig. 5-10 se observa una buena discriminación entre los métodos de extracción, en los que se explica un 79.6 % de la variabilidad total en epicarpio (A), un 71.9 % en mesocarpio (B), 65.8 % en semilla (C) y un 77 % en tegumento (D).

Los extractos obtenidos por los tres métodos de epicarpio de las tres variedades se separaron a lo largo del PC 1 (42.6 %) y del PC 2 (37 %); así mismo se observa que en la variedad Fuerte existe un solapamiento parcial entre agitación y microondas, en la variedad Hass existe un solapamiento parcial entre los tres métodos y en aguacatillo el solapamiento se dio entre microondas y agitación.

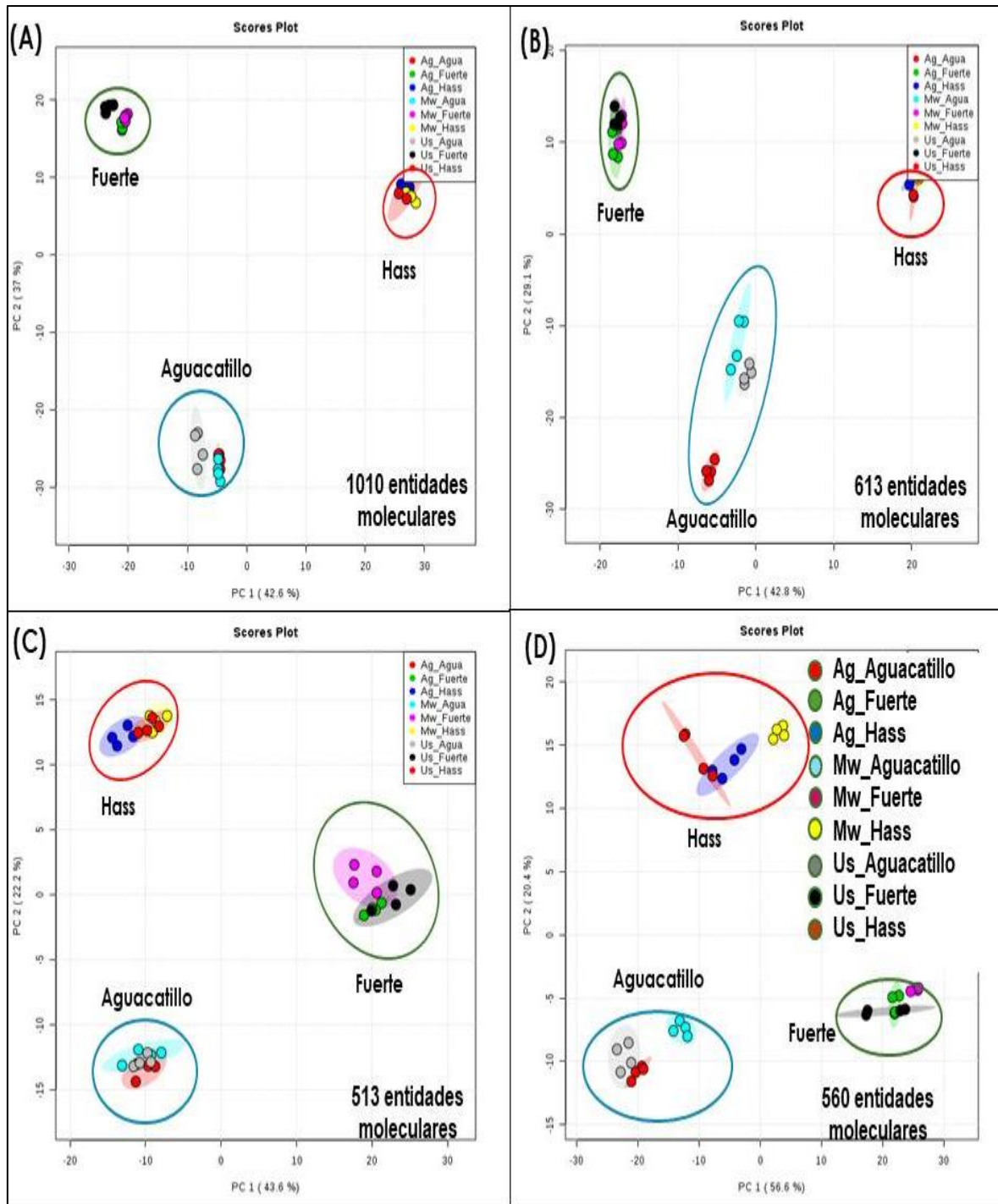


FIGURA 5-10 Efecto del método de extracción (Us: ultrasonidos, Mw: microondas y Ag: agitación), del tipo de tejido (A: epicarpio, B: mesocarpio, C: semilla y D: tegumento) y de la variedad (Hass, Fuerte y Aguacatillo) sobre los compuestos extraídos.

En los extractos de mesocarpio, existe una discriminación entre las tres variedades y se separaron a lo largo de PC 1 (42.8 %) y PC 2 (29.1 %), en dicho análisis se observa que en la variedad Fuerte hay un solapamiento entre los tres métodos de extracción, teniéndose que en los tres se presentan resultados similares; en la variedad Hass también hay un efecto similar entre los tres métodos; caso contrario a las muestras de aguacatillo, en ese conjunto formado por agitación fueron más distantes respecto a los otros dos, entre microondas y ultrasonidos existe mayor proximidad entre ellos.

En la Figura 5-10C, de los extractos de semilla existe una discriminación clara entre variedades de aguacate con los tres métodos de extracción usados y éstos se separaron a lo largo de PC 1 (43.6 %) y PC 2 (22.2 %). Así mismo, se observa un solapamiento entre los tres métodos de extracción en las tres variedades, teniéndose que en los tres se presentan resultados similares.

En la Figura 5-10D, de los extractos obtenidos por ultrasonidos, microondas y agitación de tegumento, las variedades se separaron a lo largo de PC 1 (56.6 %) y PC 2 (20.4 %); en la variedad Hass existe una correlación entre las entidades moleculares obtenidas por ultrasonidos y agitación, caso contrario a los extractos con microondas, estos muestran una proximidad con agitación; respecto a la variedad aguacatillo existe una correlación entre ultrasonidos y agitación, pero si existe una gran diferencia con microondas con respecto a los otros dos; por último en la variedad Fuerte hay una correlación entre agitación y ultrasonidos.

5.7.2 Efecto del método de extracción sobre los compuestos extraídos en aguacate Fuerte

Para llevar a cabo un análisis más exhaustivo entre métodos, se realizó una prueba de discriminación mediante PCA en aguacate variedad Fuerte.

De los datos obtenidos por espectrometría de masas en esta variedad, se obtuvo la matriz (1010x12) formada por las 1010 entidades moleculares en epicarpio,

una matriz (613x12) para mesocarpio, otra matriz (513x12) para semilla y otra (560x12) para tegumento.

En la Figura 5-11 se observa la discriminación que existe entre los métodos de extracción, en los que se explica un 52.4% de la variabilidad total en epicarpio (A), un 42.2 % en mesocarpio (B), 63.1% en semilla (C) y un 61.3% en tegumento (D).

Los extractos de epicarpio obtenidos por los tres métodos se separaron a lo largo de PC 1 (36.1 %) y PC 2 (16.3 %); así mismo se observa que en la variedad Fuerte existe un solapamiento parcial entre agitación y microondas.

En los extractos de la mesocarpio, existe una solapamiento parcial entre agitación y microondas, las 613 entidades moleculares se separaron a lo largo de PC 1 (23.7 %) y PC 2 (18.5 %).

En la Figura 5-11C, de los extractos de semilla, se observa que existe una discriminación entre microondas con respecto a los otros dos métodos, ya que agitación y microondas presentan una correlación parcial entre ambos, este efecto se ve reflejado a lo largo de PC 1 (42.2 %) y de PC 2 (20.9 %).

La Figura 5-11D, de los extractos de tegumento obtenidos por ultrasonidos, microondas y agitación muestra que los métodos de extracción se separaron a lo largo de PC 1 (46.1 %) y PC 2 (15.2 %) y se observa que no hay un efecto entre cada método.

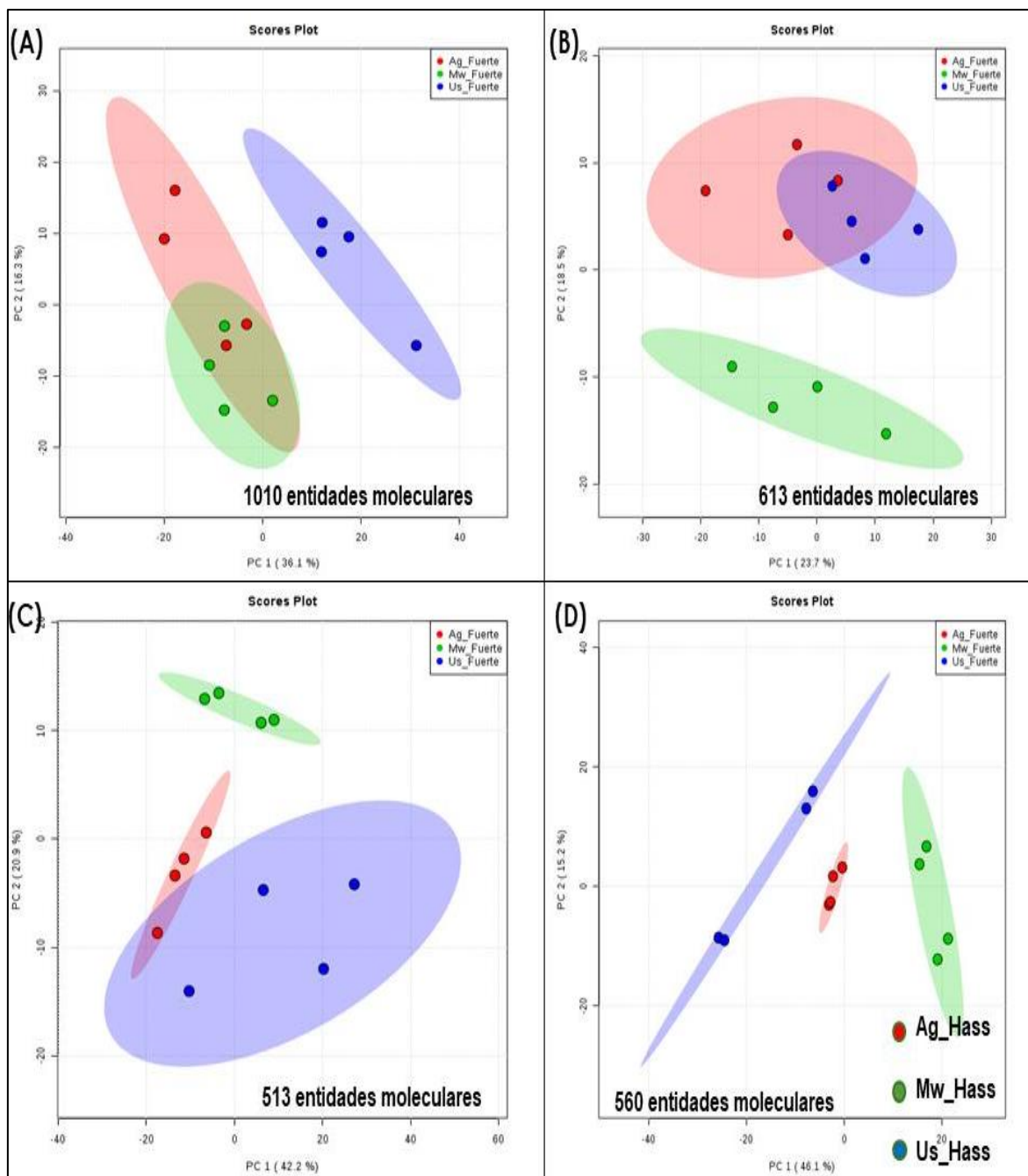


FIGURA 5-11 Efecto del método de extracción (Us: ultrasonidos, Mw: microondas y Ag: agitación) y del tipo de tejido (A: epicarpio, B: mesocarpio, C: semilla y D: tegumento) de aguacate var. Fuerte, sobre los compuestos extraídos.

5.7.3 Efecto del método de extracción sobre los compuestos extraídos en aguacate Hass

El análisis discriminativo en la variedad Hass se realizó con una matriz (1010x12) formada por las 1010 entidades moleculares en epicarpio, una matriz (613x12) para mesocarpio, otra matriz (513x12) para semilla y otra (560x12) para tegumento.

En la Figura 5-12 se observa la discriminación que existe entre los métodos de extracción, en los que se explica un 61.6 % de la variabilidad total en epicarpio (A), un 50.7 % en mesocarpio (B), 62 % en semilla (C) y un 72.7 % en tegumento (D).

Los extractos de epicarpio de la variedad Hass obtenidos por los tres métodos se separaron a lo largo de PC 1 (40.7 %) y PC 2 (20.9 %); existe un solapamiento entre los tres métodos de extracción.

En los extractos de mesocarpio, no hay una correlación entre los métodos, las 613 entidades moleculares se separaron a lo largo de PC 1 (28.2 %) y PC 2 (22.5 %).

En la Figura 5-12C, de los extractos de semilla, no hay una correlación entre los métodos, este efecto se ve reflejado a lo largo de PC 1 (45.8 %) y PC 2 (16.2 %).

Los extractos de tegumento obtenidos por ultrasonidos, microondas y agitación (Figura 5-12D), se separaron a lo largo de PC 1 (62.1 %) y PC 2 (10.6 %) y se observa que hay una correlación entre agitación y ultrasonidos; en cuanto a los extractos con microondas, no correlacionan con los otros dos métodos.

5.7.4 Efecto del método de extracción sobre los compuestos extraídos en aguacatillo

El análisis discriminativo en aguacatillo se realizó con una matriz (1010x12) formada por las 1010 entidades moleculares en epicarpio, una matriz (613x12) para mesocarpio, otra matriz (513x12) para semilla y otra (560x12) para tegumento.

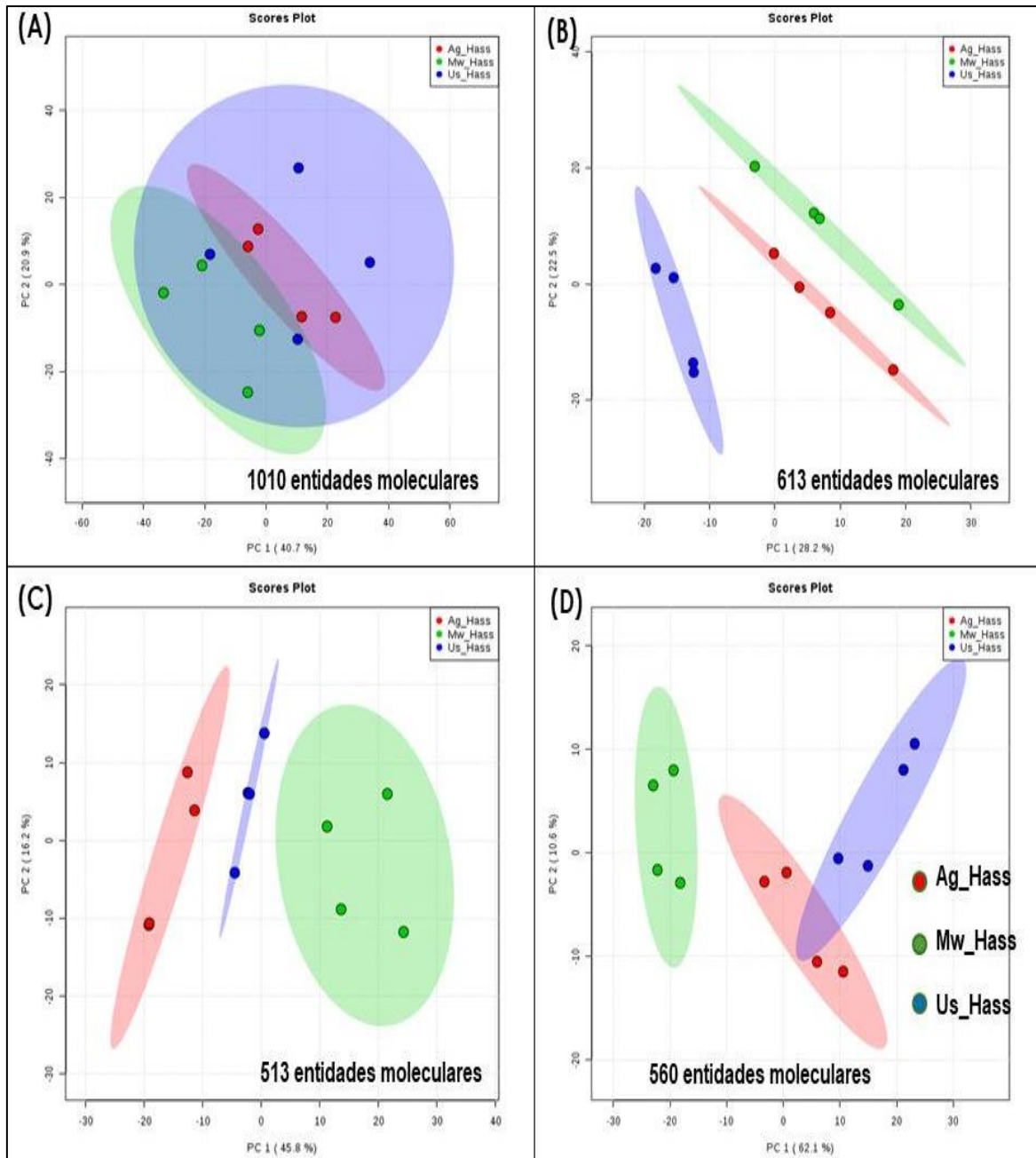


FIGURA 5-12 Efecto del método de extracción (Us: ultrasonidos, Mw: microondas y Ag: agitación) y del tipo de tejido (A: epicarpio, B: mesocarpio, C: semilla y D: tegumento) de aguacate var. Hass, sobre los compuestos extraídos.

En la Figura 5-13 se observa la discriminación que existe entre los métodos de extracción, en los que se explica un 67.9 % de la variabilidad total en epicarpio (A), un 76.2 % en mesocarpio (B), 62 % en semilla (C) y un 64.9 % en tegumento (D).

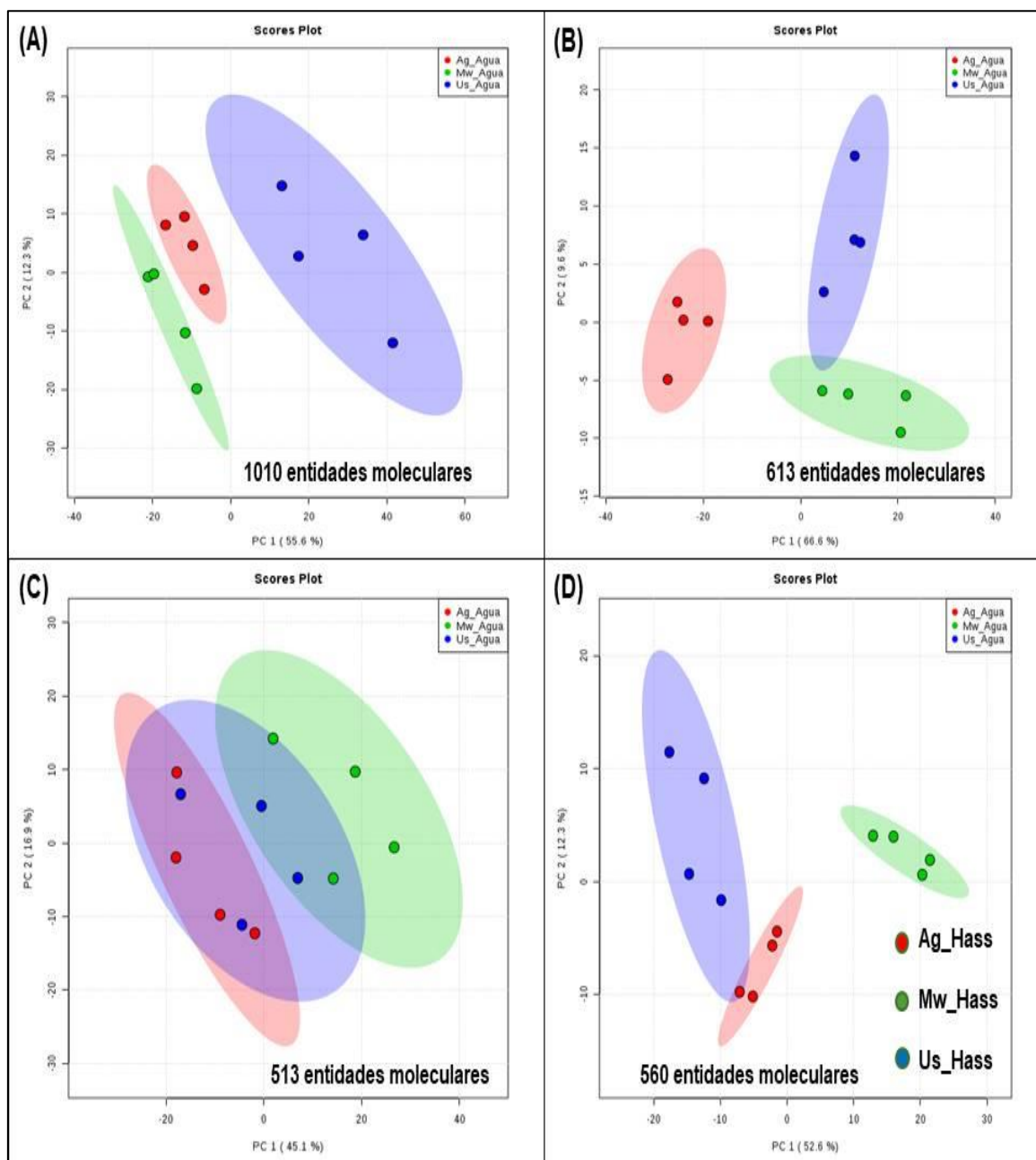


FIGURA 5-13 Efecto del método de extracción (Us: ultrasonidos, Mw: microondas y Ag: agitación) y del tipo de tejido (A: epicarpio, B: mesocarpio, C: semilla y D: tegumento) de aguacatillo, sobre los compuestos extraídos.

Los extractos obtenidos por los tres métodos de epicarpio en esta variedad se separaron a lo largo de PC 1 (55.6 %) y PC 2 (12.3 %); no se observó correlación entre métodos de extracción.

En los extractos de mesocarpio, existe un solapamiento parcial entre microondas y ultrasonidos, a diferencia de los extractos con agitación que no muestran una correlación con los otros métodos, las 613 entidades moleculares se separaron a lo largo de PC 1 (66.6 %) y PC 2 (9.6 %).

En la Figura 5-13C, los extractos de semilla obtenidos con ultrasonidos muestran una similitud con respecto a los otros dos métodos, sin embargo entre los extractos obtenidos con ayuda de agitación y de microondas no hay una correlación, este efecto se ve reflejado a lo largo de PC 1 (45.1 %) y PC 2 (16.9 %).

Los extractos de tegumento obtenidos por ultrasonidos, microondas y agitación (Figura 5-13D), se separaron a lo largo de PC 1 (52.6 %) y PC 2 (64.9 %), se observa que hay una correlación parcial entre agitación y ultrasonidos; en cuanto a los extractos con microondas, estos no correlacionan con los otros dos métodos.

5.7.5 Efecto de la variedad de aguacate y del tipo de tejido sobre los compuestos extraídos con ultrasonidos

En la evaluación para el análisis discriminativo en ultrasonidos, se obtuvo una matriz (1010x12) formada por las 1010 entidades moleculares en epicarpio, una matriz (613x12) para mesocarpio, otra matriz (513x12) para semilla y otra (560x12) para tegumento.

En los extractos obtenidos de epicarpio de las tres variedades (Figura 5-14A), se explica el 85.3 % de la variabilidad total, reflejados en PC 1 (46.5 %) y PC 2 (38.8 %), las entidades moleculares de la variedad Fuerte se agruparon de tal forma que se observa mucha similitud entre ellos.

En los extractos de mesocarpio, las entidades moleculares no mostraron correlación entre las variedades, las 613 entidades moleculares se separaron a lo

largo de PC 1 (52.2 %) y PC 2 (32.7 %) representando el 84.9 % de la variabilidad total.

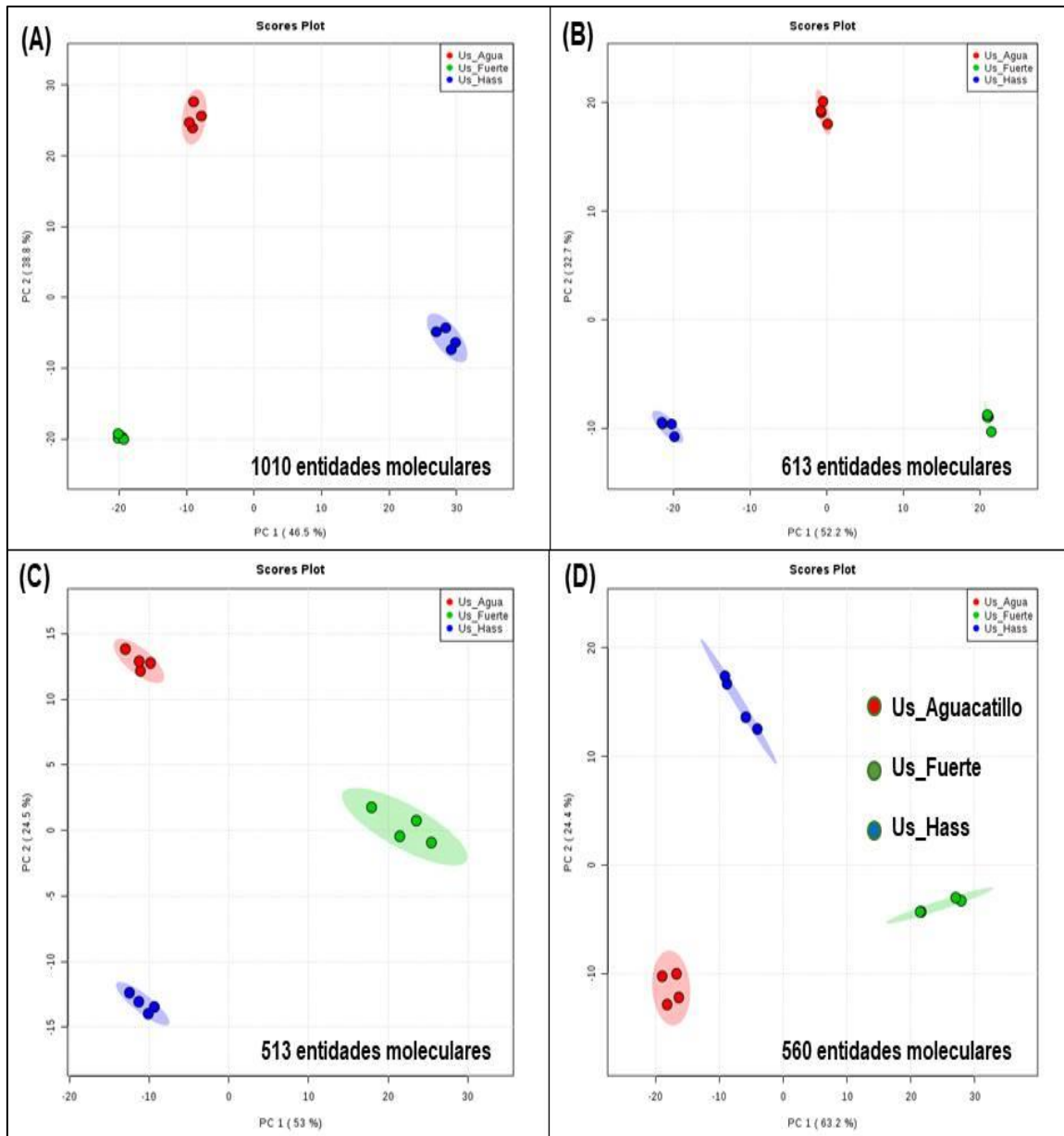


FIGURA 5-14 Efecto de la variedad de aguacate (Hass, Fuerte y Aguacatillo) y del tipo de tejido (A: epicarpio, B: mesocarpio, C: semilla y D: tegumento) sobre los compuestos extraídos con la asistencia de ultrasonidos.

En la Figura 5-14C, se observa una distribución amplia a lo largo de PC 1 (53 %) y PC 2 (24.5 %) representando el 77.5 % de la variabilidad total, existe una gran dispersión entre las variedades.

En los extractos de tegumento (Figura 5-14D), las entidades de los extractos obtenidos por los diferentes métodos se separaron a lo largo de PC 1 (63.2 %) y PC 2 (24.4 %), con una variabilidad total del 87.6 %, no hay correlación entre variedades de aguacate.

5.7.6 Efecto de la variedad de aguacate y del tipo de tejido sobre los compuestos extraídos con microondas

El análisis discriminativo de los extractos obtenido con ayuda de microondas, se realizó con una matriz (1010x12) formada por las 1010 entidades moleculares de extractos de epicarpio, una matriz (613x12) para extractos de mesocarpio, otra matriz (513x12) para extractos de semilla y otra (560x12) para extractos de tegumento.

El análisis de PCA de los extractos de epicarpio de las tres variedades (Figura 5-15A), explica el 89.1 % de la variabilidad total, reflejados en PC 1 (46.4 %) y PC 2 (42.7 %), existe una dispersión entre cada variedad, pero las entidades moleculares de cada una de las variedades se agruparon de tal forma que se observa mucha similitud entre ellos.

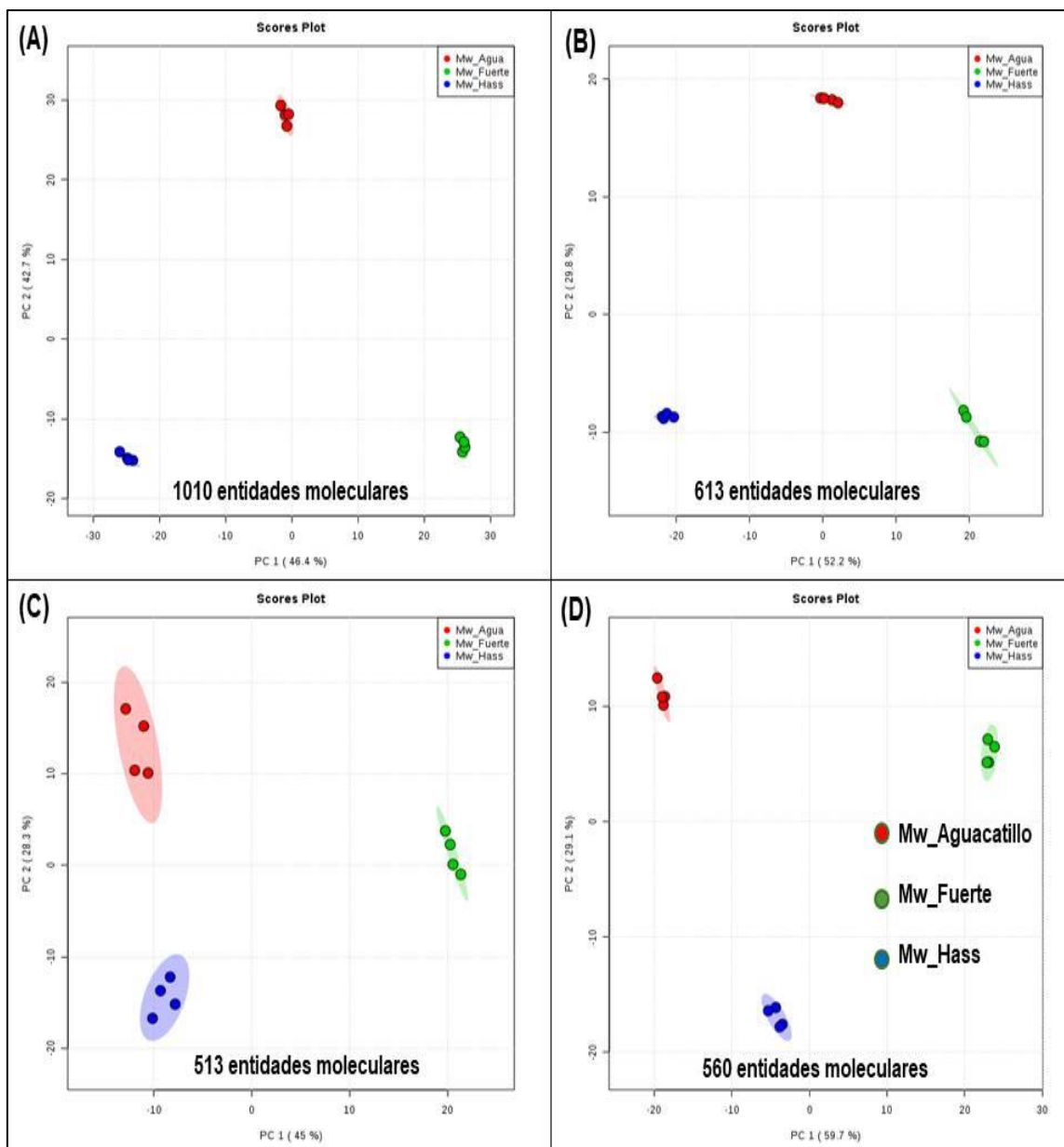


FIGURA 5-15 Efecto de la variedad de aguacate (Hass, Fuerte y Aguacatillo) y del tipo de tejido (A: epicarpio, B: mesocarpio, C: semilla y D: tegumento) sobre los compuestos extraídos con la asistencia de microondas.

En los extractos de mesocarpio, las entidades moleculares no mostraron correlación entre las variedades, las 613 entidades moleculares se separaron a lo largo de PC 1 (52.2 %) y PC 2 (29.8 %) representando el 82 % de la variabilidad total.

En la Figura 5-15C se observa una distribución amplia a lo largo de PC 1 (45 %) y PC 2 (28.3 %) representando el 73.3 % de la variabilidad total, hay dispersión entre cada variedad

Las entidades moleculares de los extractos de tegumento (Figura 5-15D), se separaron según el método utilizado para su extracción, a lo largo de PC 1 (59.7 %) y PC 2 (29.1 %), con una variabilidad total explicada del 88.8 %, no existe una correlación entre variedades de aguacate.

5.7.7 Efecto de la variedad de aguacate y del tipo de tejido sobre los compuestos extraídos con agitación.

El análisis discriminativo de los extractos obtenidos por maceración con agitación se realizó con una matriz (1010x12) formada por las 1010 entidades moleculares en epicarpio, una matriz (613x12) para mesocarpio, otra matriz (513x12) para semilla y otra (560x12) para tegumento.

El ACP de los extractos obtenidos de epicarpio de las tres variedades (Figura 5-16A), explica el 88.2 % de la variabilidad total, reflejados en PC 1 (47.5 %) y PC 2 (40.7 %), las entidades moleculares de la variedad Fuerte se agruparon de tal forma que se observa mucha similitud entre ellos.

Las entidades moleculares de los extractos de mesocarpio no mostraron correlación entre las variedades, las 613 entidades moleculares se separaron a lo largo de PC 1 (47.5 %) y PC 2 (39.9 %) representando el 87.4 % de la variabilidad total, los entidades moleculares de cada variedad mostraron una mayor dispersión entre ellas.

En la Figura 5-16C se observa que se formaron tres grupos, uno para cada variedad, por lo que se infiere que en cada grupo hay similitud entre las entidades moleculares, esto representa el 79.4% de la variabilidad total (PC 1:53.3% y PC 2 26.1%).

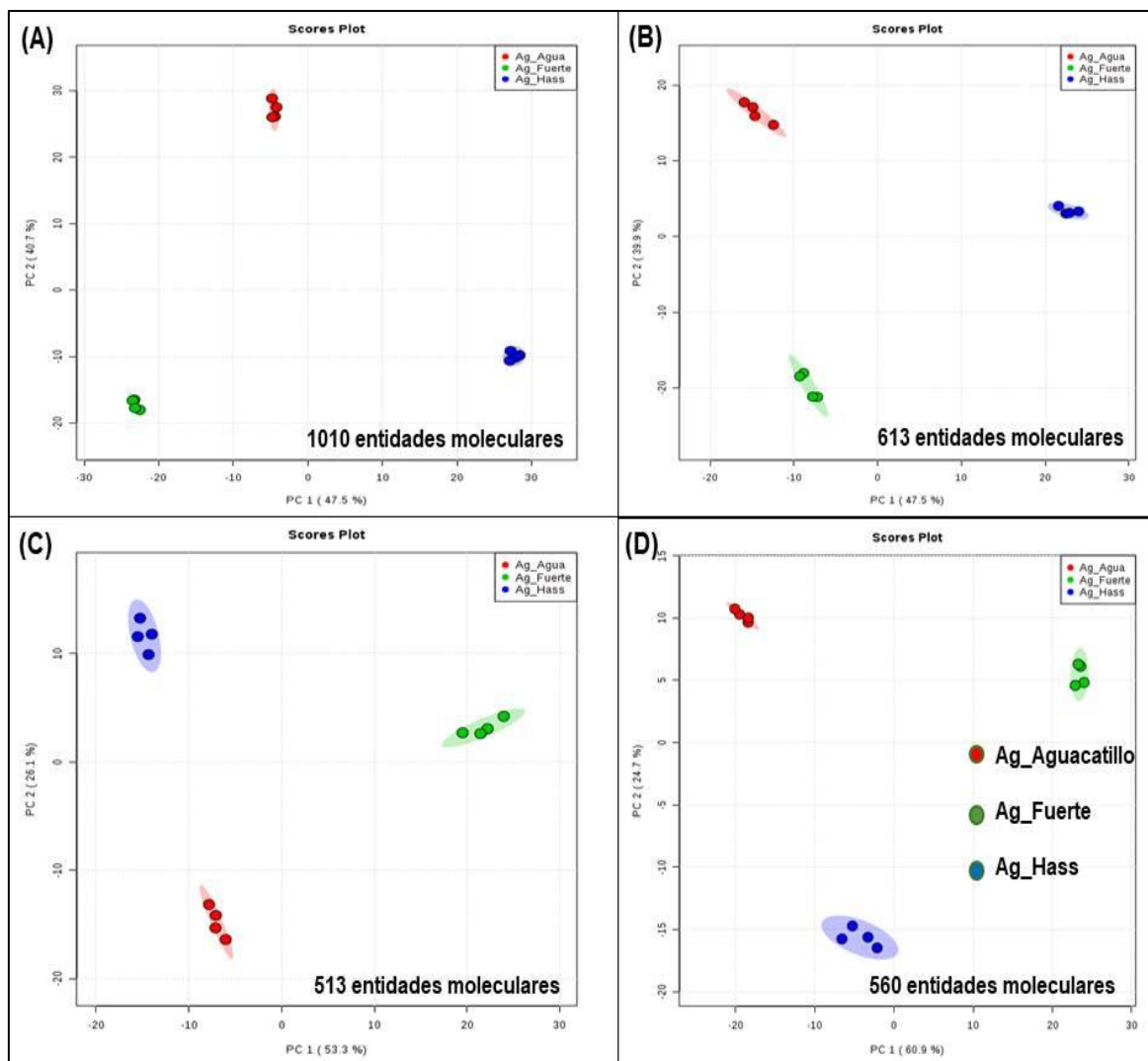


FIGURA 5-16 Efecto de la variedad de aguacate (Hass, Fuerte y Aguacatillo) y del tipo de tejido (A: epicarpio, B: mesocarpio, C: semilla y D: tegumento) sobre los compuestos extraídos por agitación.

Las entidades moleculares de los extractos de tegumento (Figura 5-16D), se separaron a lo largo de PC 1 (60.9 %) y PC 2 (24.7 %, con una variabilidad total del 85.6 %, mostrando que no hay correlación entre variedades de aguacate. Las entidades moleculares del extracto de aguacate de variedad Hass mostraron mayor dispersión en comparación con las de los extractos de tegumento de aguacates de la variedad fuerte y aguacatillo.

5.8 Caracterización química de los extractos de aguacate mediante cromatografía de líquidos acoplada a espectrometría de masas de alta resolución

La caracterización de metabolitos en los extractos de los tejidos de las tres variedades de aguacate obtenidos por los tres métodos de extracción, se efectuó por comparación de los espectros MS/MS obtenidos experimentalmente contra los que se encuentran en las bases de datos públicas *Metabolite and tandem MS database* (METLIN), *The Human Metabolome Database* (HMDB), *RIKEN MSn spectral database for phytochemicals* (ReSpect) y *MassBank*, en las cuales se encuentra una amplia variedad de espectros generados desde diferentes plataformas analíticas.

5.8.1 Identificación de los metabolitos mediante espectros MS/MS

En esta investigación se lograron identificar 155 metabolitos en los extractos de los diferentes tejidos de las tres variedades de aguacate, clasificados de la siguiente manera:

- En los extractos obtenidos con la asistencia de ultrasonidos: 170
 - Fuerte: 43 en epicarpio, 49 en mesocarpio, 35 en semilla y 55 en tegumento.
 - Hass: 53 en epicarpio, 50 en mesocarpio, 32 en semilla y 39 en tegumento.
 - Aguacatillo: 46 en epicarpio, 50 en mesocarpio, 29 en semilla y 31 en tegumento.
- En los extractos obtenidos con la asistencia de microondas: 188
 - Fuerte: 38 en epicarpio, 59 en mesocarpio, 43 en semilla y 62 en tegumento.
 - Hass: 51 en epicarpio, 48 en mesocarpio, 43 en semilla y 49 en tegumento.
 - Aguacatillo: 57 en epicarpio, 46 en mesocarpio, 36 en semilla y 33 en tegumento.

- En los extractos obtenidos por maceración con agitación: 164
 - Fuerte: 46 en epicarpio, 51 en mesocarpio, 43 en semilla y 58 en tegumento.
 - Hass: 22 en epicarpio, 40 en mesocarpio, 36 en semilla y 39 en tegumento.
 - Aguacatillo: 55 en epicarpio, 36 en mesocarpio, 31 en semilla y 37 en tegumento.

Algunos de los metabolitos que se identificaron en todas las muestras fueron ácido quínico, perseitol, betaína, trigonelina, L-glutamato, hesperetina, sacarosa, hesperedina, naringina, L-prolina, ácido cítrico y D-glucoheptosa. En la Tabla 5-15 se muestran algunos metabolitos identificados agrupados de acuerdo a sus propiedades químicas. En la Tabla 5-16, se muestran los compuestos que se encontraron sólo en los extractos de determinadas variedades de aguacate, lo que les daría particularidad a los frutos de esas variedades.

Los resultados resumidos anteriormente están relacionados con los informes publicados por Guetsky *et al.*, 2005; Hurtado-Fernández *et al.*, 2011; Contreras-Gutiérrez *et al.*, 2013 y Hurtado-Fernández *et al.*, 2014, quienes reportaron metabolitos similares a los identificados en este estudio. En los estudios citados, los autores encontraron que el ácido quínico fue uno de los metabolitos identificados con mayor concentración, también identificaron ácidos benzoicos y pantoténicos, epicatequina y catequina, ácidos ferúlicos y *p*-cumáricos (ácidos hidroxicinámicos).

TABLA 5-13: Compuestos encontrados en las tres variedades de las cuatro fracciones morfológicas con los tres métodos de extracción.

Ácidos carboxílicos	Aminoácidos	Flavonoides	Azúcares	Ácidos fenólicos	Ácidos grasos	Otros
Ácido quínico	L- glutamato	Hesperitina	D- glucoheptosa	Ácido clorogénico	Éster metílico del ácido 7-cis hexadecenoico	Ácido shikímico
Ácido cítrico	L-serina	Hesperedina	D-manitol	<i>p</i> -ácido cumárico	1-Palmitoil-2-linoleoil PE (PLPE)	Niacina (ácido nicotínico)
	L-glutamina	Naringina	1-kestosa	<i>m</i> -ácido cumárico	Metiléster del ácido eicosapentaenoico	Piridoxina (Vitamina B6)
	L- ácido aspártico	Procianidina B2			Metiléster de ácido 9 (Z), 11 (E), 13 (E) octadecatrienoico	Salidroside
	L- asparagina	Epicatequina			Metiléster del ácido 5 (Z), 8 (Z), 11 (Z) Eicosatrienoico	Ácido orótico
	L-tirosina	Kaempferol 7-O- glucósido			Éster metílico del ácido araquidónico	Dopamina
	Ácido γ - aminobutírico	Quercetina 3- galactósido				Glutati3n
	L-valina	Rutina				Perseitol
	L-leucina	Quercetina				
	Betaína					

TABLA 5-14: Compuestos característicos de las variedades de aguacate.

Nombre del compuesto	Ultrasonidos												Microondas												Agitación															
	Aguacatillo				Fuerte				Hass				Aguacatillo				Fuerte				Hass				Aguacatillo				Fuerte				Hass							
	C	P	S	T	C	P	S	T	C	P	S	T	C	P	S	T	C	P	S	T	C	P	S	T	C	P	S	T	C	P	S	T	C	P	S	T	C	P	S	T
L-ácido aspártico	X								X				X			X					X							X												
L-triptófano								X												X	X											X								
L-isoleucina						X												X	X					X						X										
Ácido <i>p</i> -cumárico									X											X											X	X								
Ácido <i>m</i> -cumárico								X	X															X																
β -fenilo- γ -ácido amino butírico																							X					X	X			X								
L-fenilalanina				X					X											X																				
1-feniletilamina												X												X																
Ácido málico														X										X																
Dopamina									X											X																				
Ácido 2-hidroxicinámico										X										X											X									
Acido succínico																X																								
Glutación																															X									
1-Kestosa																								X																

El ácido abscísico es una hormona vegetal que participa en el desarrollo y crecimiento así como en la respuesta adaptativa a estrés tanto de tipo abiótico como biótico. Funciona en muchos procesos de desarrollo de plantas, incluida la dormancia de los brotes.

Dentro de la familia de los flavonoides, se determinó naringina, epicatequina, catequina, kaempferide y quercetina. La epicatequina y la quercetina fueron los más abundantes.

En el trabajo publicado por Hurtado-Fernández *et al.* (2011) identificaron 17 compuestos fenólicos en mesocarpio de tres variedades de aguacate (Hass, Lamb-Hass y Rugoro). En ese mismo año reportó un análisis en el mismo tejido pero ahora de 13 variedades, en el que identificó más de 200 compuestos pertenecientes a varias clases estructurales (ácidos orgánicos, azúcares, nucleósidos, vitaminas, isoprenoides, ácidos fenólicos y derivados de glucósido, aminoácidos, flavonoides, ácidos grasos, hormonas vegetales, entre otros).

En este contexto, Kosińska *et al.* (2012) realizaron un estudio sobre los compuestos fenólicos y la actividad antioxidante (AA) de epicarpio y semilla de dos variedades de aguacate (Hass y Shepard) en extractos obtenidos por maceración con etanol; obtuvieron 14 compuestos en epicarpio, entre los que destacan catequinas, epicatequinas y quercetinas y 5 compuestos en semilla, procianidinas, catequina y ácido clorogénico.

Estos metabolitos destacan por su capacidad antioxidante tales como la Procianidina B2, que también tiene diversos efectos celulares y posibles propiedades anticancerígenas. El glutatión es un compuesto sintetizado a partir de la cisteína, contiene un grupo crucial de tiol (-SH) que lo convierte en un antioxidante eficaz. El ácido clorogénico es un ácido fenólico natural, inhibidor carcinógeno. La colina es una molécula precursora de la cerilcolina, un neurotransmisor que está involucrado en diversas funciones, en las que se incluye la memoria y el control muscular. El metabolito β -fenilo- γ -ácido amino butírico es un aminoácido derivado del GABA que se utiliza para eliminar la ansiedad y tratar el insomnio. Algunos metabolitos

participan como intermediarios bioquímicos, como el ácido shikímico que participa como un intermediario bioquímico importante en plantas y microorganismos. El L-ácido aspártico es un aminoácido que juega un papel importante en la síntesis de otros aminoácidos y en los ciclos del ácido cítrico y de la urea. Otros compuestos esenciales en la dieta humana, L-triptófano es un aminoácido esencial en la dieta humana, la L-isooleucina es un aminoácido presente en las proteínas de la dieta y se encuentra en la mayoría de las semillas y nueces. 1-Kestosa es un fructooligosacárido que contiene un pequeño número (de tres a seis) de azúcares componentes.

Es importante mencionar que la energía de colisión es un factor muy importante dentro de la identificación de los compuestos, para obtener la mayor información estructural posible de cada entidad molecular, las 36 muestras usadas en esta investigación fueron tratadas con dos energías de colisión (20 y 40 eV). La necesidad de una mayor o menor energía de colisión depende del tipo de molécula, generalmente, entre mayor sea el tamaño de la molécula mayor será la cantidad de energía necesaria para obtener los fragmentos característicos (Ledesma-Escobar, 2016). La mayoría de los compuestos se identificaron en ambas polaridades, seguida de la polaridad de positiva y finalmente la negativa.

Con lo descrito anteriormente, se lograron identificar 155 metabolitos de los cuales, 12 ácidos carboxílicos, 23 aminoácidos, 19 flavonoides, 11 azúcares, 4 vitaminas, 7 ácidos fenólicos, 7 péptidos, y 7 ácidos grasos. En la identificación también se encontraron 65 metabolitos pertenecientes a otros grupos, tales como aminas, alcaloides, nucleobases y glucósidos. Los parámetros de identificación de los 155 metabolitos se muestran en la Tabla 8-7, así mismo se presentan algunas características de dichos metabolitos en la Tabla 8-8, ambas descritas en el Anexo 7.

6 CONCLUSIONES

En el presente estudio, se evaluó el efecto del método de extracción sobre el perfil de metabolitos y la actividad antioxidante de extractos de tejidos de tres variedades de aguacate.

Para ello, primero se estableció la metodología más adecuada para la extracción de metabolitos de epicarpio, mesocarpio, semilla y endocarpio de tres variedades de aguacate, utilizando ultrasonidos, microondas y agitación como métodos de extracción, mediante el análisis de múltiples respuestas se determinaron los parámetros más adecuados para cada tejido. De manera general se observó que los métodos de extracción asistida por ultrasonidos y agitación muestran el mismo efecto en las tres variedades, y en el caso de la extracción con microondas tiende a una aproximación a ellos, pero se requieren diferentes condiciones de extracción para cada método.

Después de obtener las condiciones de trabajo más adecuadas para cada tejido, se obtuvieron nuevos extractos con esas condiciones para llevar a cabo la caracterización de los extractos con respecto al contenido de sólidos y fenoles totales, y a la actividad antirradical. El extracto que mostró que el tejido que mostro mayor concentración de compuestos fenólicos y mayor actividad antioxidante en la mayoría de los análisis fue el de la semilla.

Las entidades moleculares de los extractos se caracterizaron mediante análisis global (LC-QTOF MS/MS) y se analizaron por componentes principales. Se obtuvieron 2696 entidades moleculares que mostraron diferencias significativas entre variedades de aguacate y sus tejidos, así como entre las técnicas de extracción, mostrando que la composición de los extractos de tejidos que pudieran ser similares, como el tegumento, depende de la variedad del fruto. Se lograron identificar 155 compuestos tentativos, de los cuales 86 han sido previamente reportados y 70 se han encontrado por primera vez en este trabajo.

Los subproductos derivados de la agroindustria del aguacate, como el epicarpio y la semilla poseen compuestos de alto valor que pueden ser extraídos y podrían ser empleados en las industrias de alimentos, cosmética y farmacéutica, lo que conduciría a un aprovechamiento integral del fruto y adicionalmente se reduciría el impacto ambiental ocasionado por la inadecuada disposición de los subproductos; sin embargo, debe de realizarse un análisis cuantitativo de los compuestos de interés aquí encontrados, antes de proponer el uso de los desechos como fuente de compuestos bioactivos.

7 BIBLIOGRAFÍA

Alam, M. N., Bristi, N. J., y Rafiquzzaman, M. (2013). Revisión sobre métodos in vivo e in vitro de evaluación de actividad antioxidante. *Arabia Saudita J. Pharm.*, **21**(2), 143-152.

Álvarez-Sánchez B., Priego-Capote F. y Luque de Castro M.D. (2010b). Metabolomics analysis i. Selection of biological samples and practical aspects preceding sample preparation. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, **29**(2): 111-119.

Anderson Vázquez, H. E., Cabrera, S., Lozano, R., y González Inciarte, L. C. (2009). Efecto del consumo de aguacate (*Persea Americana Mill*) sobre el perfil lipídico en adultos con dislipidemia. In *Anales Venezolanos de Nutrición*. **22**(2), pp. 84-89. Fundación Bengoa.

Arumugam, P., Ramamurthy, P., Santhiya, S. T., y Ramesh, A. (2006). Antioxidant activity measured in different solvent fractions obtained from *Mentha spicata* Linn.: An analysis by ABTS+ decolorization assay. *Asia Pac. J. Clin. Nutr.*, **15**(1), 119.

Ashton, O. B., Wong, M., McGhie, T. K., Vather, R., Wang, Y., Requejo-Jackman, C.,... y Woolf, A. B. (2006). Pigments in avocado tissue and oil. *J. Agric. Food Chem.*, **54**(26), 10151-10158.

Azmir J., Zaidul I.S.M., Rahman M.M., Sharif K.M., Mohamed A., Sahena F., Jahurul M.H.A., Ghafoor K., Norulaini N.A.N. y Omar A.K.M. (2013). Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of Food Engineering*, **117**(4): 426-436.

Bagchi D, Bagchi M, Stohs SJ, Ray SD, Sen CK y Preuss HG. (2002). Cellular Protection with Proanthocyanidins Derived from Seeds. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **957**:260-270.

Barrientos, A. F., García, E., y Avitia, E. (1996). *Anatomía del fruto de aguacate. ¿Drupa o Baya?* Revista Chapingo Serie Horticultura. v. **2**(2) p.189-198. Universidad Autónoma Chapingo, Chapingo, México.

Basante, J., Cruz, S., Osorio, C., y Hurtado, n. (2016). Obtención, fraccionamiento y determinación de la composición de extractos polifenólicos de aguacate (*Persea americana Mill*). Congreso Iberoamericano de productos naturales, Bogotá, Colombia.

Bayramoglu, B., Sahin, S., y Sumnu, G. (2008). Solvent-free microwave extraction of essential oil from oregano. *J. Food Eng.*, **88**(4), 535-540.

- Belmar, R. (1996). Variación estacional de la concentración de aceite y humedad de mesocarpio y calidad en frutos de palto cvs. "Bacon y Edranol" Tesis de Licenciatura en Ingeniería Agrónoma, Universidad de Chile, Chile.
- Ben-Et, G., Dolev, A., y Tatarsky, D. (1973). Compounds contributing to heat-induced bitter off-flavor in avocado. *J. Food Sci.*, **38**(3), 546-547.
- Bermúdez Zarate, R. (2012). Extracción de aceite de pulpa de aguacate variedad Hass por los métodos de Soxhlet, fluido crítico y sonicación. Tesis de licenciatura de Ingeniería de Alimentos. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Bors W, Heller W, Michael, C., y Saran, M. (2002). Flavonoids as antioxidants: determination of radical-scavenging efficiencies. *Methods Enzymol*, 186:343-355.
- Bousbia, N., Vian, M. A., Ferhat, M. A., Petitcolas, E., Meklati, B. Y., y Chemat, F. (2009). Comparison of two isolation methods for essential oil from rosemary leaves: Hydrodistillation and microwave hydrodiffusion and gravity. *Food Chem.*, **114**(1), 355-362.
- Breksa, A.P. y Manners, G.D. (2006). Evaluation of the Antioxidant Capacity of Limonin, Nomilin, and Limonin Glucoside. *J. Agric. Food Chem.*, 3827-3831.
- Bressani, R. (2009). La composición química, capacidad antioxidativa y valor nutritivo de la semilla de variedades de aguacate, Proyecto FODECY, Guatemala.
- Buelvas Salgado, G. A.; Patiño Gómez, J. H. y Cano Salazar, J.A. (2012). Evaluación del proceso de extracción de aceite de aguacate Hass (*Persea americana* Mill) utilizando tratamiento enzimático. *Revista Lasallita de Investigación*. **9**(2), 138-150.
- Burda, S. y Oleszek, W. (2001). Antioxidant and Antiradical Activities of Flavonoids. *J. Agric. Food Chem.*, 2774-2779.
- Cabredo-Pinillos, S., Cedrón-Fernández, T., González-Briongos, M., Puente-Pascual, L., y Sáenz-Barrio, C. (2006). Ultrasound-assisted extraction of volatile compounds from wine samples: Optimisation of the method. *Talanta*, **69**(5), 1123-1129.
- Cevallos-Cevallos J.M., Reyes-De-Corcuera J.I., Etxeberria E., Danyluk M.D. y Rodrick G.E. (2009). Metabolomic analysis in food science: A review. *Trends in Food Science & Technology*, **20**(11–12): 557-566.
- Chebrolu, K. K., Jayaprakasha, G. K., Yoo, K. S., Jifon, J. L., y Patil, B. S. (2012). An improved sample preparation method for quantification of ascorbic acid and dehydroascorbic acid by HPLC. *LWT-Food Sci. Technol.*, **47**(2), 443-449.
- Chemat, F., y Khan, M. K. (2011). Applications of ultrasound in food technology: processing, preservation and extraction. *Ultrason. Sonochem.*, **18**(4), 813-835.
- Chen, F., Sun, Y., Zhao, G., Liao, X., Hu, X., Wu, J., y Wang, Z. (2007). Optimization of ultrasound-assisted extraction of anthocyanins in red raspberries and identification of anthocyanins in extract using high-performance liquid chromatography–mass spectrometry. *Ultrason. Sonochem.*, **14**(6), 767-778.

- Cifuentes A. y Rutledge D. (2013). Foodomics and food analysis in the post-genomics era. *TrAC. Trends in Analytical Chemistry*, **52**(1).
- Cleaning Technologies Group (2011). Consultado en Marzo de 2017. Disponible en www.ctgclean.com.
- Contreras-Calderón, J., Calderón-Jaimes, L., Guerra-Hernández, E., y García-Villanova, B. (2011). Antioxidant capacity, phenolic content and vitamin C in pulp, peel and seed from 24 exotic fruits from Colombia. *Food Res. Int.*, **44**(7), 2047-2053.
- Contreras-Gutiérrez, P. K., Hurtado-Fernández, E., Gómez-Romero, M., Hormaza, J. I., Carrasco-Pancorbo, A., y Fernández-Gutiérrez, A. (2013). Determination of changes in the metabolic profile of avocado fruits (*Persea americana*) by two CE-MS approaches (targeted and non-targeted). *Electrophoresis*, **34**, 2928–2942.
- Cornejo Mendoza, V. (2010). Deshidratación de rebanadas de aguacate variedad Hass por el método osmo-vac (osmótico - vacío) y evaluación de la calidad del producto (Doctoral dissertation). Instituto Politécnico Nacional, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas.
- Covarrubias Gutiérrez, I., y Valle Vega, P. Comportamiento de la pulpa de aguacate (*Persea americana*, Mill) cv. Hass ante diferentes aditivos y variación de temperatura. Tesis en Ingeniería Agrónoma. (No. Tesis C68 1984.). Universidad Autónoma Chapingo, México.
- Deng, J., Cheng, W., y Yang, G. (2011). A novel antioxidant activity index (AAU) for natural products using the DPPH assay. *Food Chem.*, **125**(4), 1430-1435.
- Dergal, S. B., Rodríguez, H. B., y Morales, A. A. (1981). *Química de los alimentos* (p. 123). Alhambra.
- Donetti, M., Terry, LA. (2014). Biochemical markers defining growing area and ripening stage of imported avocado fruit cv. Hass. *J. Food Compos. Anal.*, **34**(1), pp. 90-98.
- Dunn, W.B.; Bailey, N.J.; Johnson, H.E. (2005). Measuring the metabolome: current analytical technologies. *Analyst*, **130**:606-625.
- Dyer JM, Stymne S, Green AG, Carlsson AS. (2008). High-value oils from plants. *Plant. J.*, **54**, 640-655.
- Esau, K. (1977). *Anatomy of seed plants* John Wiley and Sons INC. New York, 101-106.
- Esquivel, A., y Aguilar, P. V. (2007). Uso de aceites esenciales extraídos por medio de fluidos supercríticos para la elaboración de alimentos funcionales. *Tecnología en marcha*, **20**(4), 7. (41-50).
- FAO. (Junio de 2015). Estadísticas. División, FAOSTAT. Obtenido de <http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/5>.
- Fidelis, J. C. F., Monteiro, A. R. G., Scapim, M. R. S., Monteiro, C. C. F., Morais, D. R., Claus, T.,... y Yamashita, F. (2015). Development of an active

biodegradable film containing tocopherol and avocado peel extract. *Italian J. Food Sci.*, **27**(4), 468-475.

Fiehn O. (2002). Metabolomics – the link between genotypes and phenotypes. *Plant Molecular Biology*, **42**(1-2): 155-171.

Fiehn, O. (2007). Cellular Metabolomics: The Quest for Pathway Structure. En: *The Handbook of Metabonomics and Metabolomics*. 1st edition. The Netherlands: Elsevier; p. 1-34

Formica JV y Regelson W., 1995. Review of the biology of quercetin and related bioflavonoids. *Food Chem. Toxicol.*, **33**:1061-1080.

Foster B.C., Arnason J.T., Briggs C.J. (2005). Natural health products and drug disposition. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **45**:203-226.

Gao, M. y Liu, C. (2005). Comparison techniques for the extraction of flavonoides from cultures cell of *Saussurea medusa* Maxim. *World J. Microbiol. Biotechnol.*, **21**, 1461-1463.

Geankoplis, C.J. (2006). Procesos de transporte y principios de procesos de separación, 4ª ed., México, CECSA.

Golmakani, M. T., y Rezaei, K. (2008). Comparison of microwave-assisted: hydrodistillation with the traditional hydrodistillation method in the extraction of essential oils from *Thymus vulgaris* L. *Food Chem.*, **109**(4), 925-930.

Grebenstein, N., y Frank, J. (2012). Rapid baseline-separation of all eight tocopherols and tocotrienols by reversed-phase liquid-chromatography with a solid-core pentafluorophenyl column and their sensitive quantification in plasma and liver. *J. Chromatogr.*, **1243**, 39-46.

Guetsky, R., Kobiler, I., Wang, X., Perlman, N., Gollop, N., Avila-Quezada, G.,... y Prusky, D. (2005). Metabolism of the flavonoid epicatechin by laccase of *Colletotrichum gloeosporioides* and its effect on pathogenicity on avocado fruits. *Phytopathology*, **95**(11), 1341–1348.

Gutiérrez, T. M., Hoyos, O. L., y Páez, M. I. (2007). Determinación del contenido de ácido ascórbico en uchuva (*Physalis peruviana* L.), por cromatografía líquida de alta resolución (CLAR). *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, **5**(1).

ISEO. (1999). Food fat and oils. Institute of shortening and edible oils, Inc. Eighth edition. Washington, D.C. 40 p.

Halouska, S.; Powers, R. (2006). Negative impact of noise on the principal component analysis of NMR data. *J Magn Reson*. 2006; **178**:99-95.

Heber, D. (2002). What color is your diet?. New York: Harper Collins.

Hernández NE, Tereschuk ML y Abdala LR. (2000). Antimicrobial activity of flavonoids in medicinal plants from Tafi del Valle (Tucuman, Argentina). *J Ethnopharmacol*, **73**:317- 322.

- Hollman PCH y Katan MB, 1998. Absorption, Metabolism, and Bioavailability of Flavonoids. En: *Flavonoids in Health and Disease*. Ed. Marcel Dekker, INC. New York, 22:483-522.
- Hope, T. (1983). Quality test identify best avocados, *Qd. Agric. J.*, 89, 1-4.
- Huang, D., Ou, B., y Prior, R. L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *J. Agric. Food Chem.*, **53**(6), 1841-1856.
- Hurtado-Fernández, E., Carrasco-Pancorbo, A., y Fernández-Gutiérrez, A. (2011). Profiling LC-DAD-ESI-TOF MS method for the determination of phenolic metabolites from avocado (*Persea americana*). *J. Agric. Food Chem.*, **59**(6), 2255–2267.
- Hurtado-Fernández, E., Contreras-Gutiérrez, P. K., Cuadros-Rodríguez, L., Carrasco-Pancorbo, A., y Fernández Gutiérrez, A. (2013). Merging a sensitive capillary electrophoresis– ultraviolet detection method with chemometric exploratory data analysis for the determination of phenolic acids and subsequent characterization of avocado fruit. *Food Chem.*, **141**(4), 3492–3503.
- Hurtado-Fernández, E., Pacchiarotta, T., Mayboroda, O. A., Fernández-Gutiérrez, A., y Carrasco-Pancorbo, A. (2014). Quantitative characterization of important metabolites of avocado fruit by gas chromatography coupled to different detectors (APCI-TOF MS and FID). *Food Res. Int.*, 62, 801-811.
- Ikram, E. H. K., Eng, K. H., Jalil, A. M. M., Ismail, A., Idris, S., Azlan, A.,... y Mokhtar, R. A. M. (2009). Antioxidant capacity and total phenolic content of Malaysian underutilized fruits. *J. Food Compos. Anal.*, **22**(5), 388-393.
- James, C. S. (Ed.). (2013). *Analytical chemistry of foods*. Springer Science & Business Media.
- Jiménez, M. E., Aguilar, M. R., Zambrano, M. L., y Kolar, E. (2001). Propiedades físicas y químicas del aceite de aguacate obtenido de puré deshidratado por microondas. *J. Mex. Chem. Soc.*, **45**(2), 89-92.
- Wannberg, J. Ersmark, K., Larhed, M. 2006. Microwave-Accelerated Synthesis of Protease Inhibitors. *Top Curr Chem.*, 266: 167–198.
- Jones P.J. (2002). Clinical nutrition: 7. Functional foods more than just nutrition. *Can. Med. Assoc. J.*, **166** (12):1555-1563.
- Jones, D. P., Coates, R. J., Flagg, E. W., Eley, J. W., Block, G., Greenberg, R. S., Gunter, E. W. y Jackson, B. (1992) Glutathione in foods listed in the National Cancer Institute's Health Habits and History Food Frequency Questionnaire. *Nutr. Cancer*, 17: 57–75.
- Ju-Fang Li, Fang Wei, Xu-Yan Dong, Lu-Lu Guo, Gang-You Yuan, Feng-Hong Huang, Mu-Lan Jiang, Yuan-Di Zhao, Guang-Ming Li, and Hong Chen. (2010) Microwave-assisted Approach for the Rapid Enzymatic Digestion of Rapeseed Meal. *Food Sci. Biotechnol.*, **19**(2): 463-469.

- Kaul A, Khanduja KL. (1998) Polyphenols inhibit promotional phase of tumorigenesis: Relevance of superoxide radicals. *Nutr. Cancer.* 32:81-85.
- Kimbaris, A. C., Siatis, N. G., Daferera, D. J., Tarantilis, P. A., Pappas, C. S., y Polissiou, M. G. (2006). Comparison of distillation and ultrasound-assisted extraction methods for the isolation of sensitive aroma compounds from garlic (*Allium sativum*). *Ultrason Sonochem.*, **13**(1), 54-60.
- Knight, R. (2002). Capítulo 1: History, distribution and uses. pp. 13-24. En: Wiley, A., B. Schaffer y B. Wolstenholme. The avocado, botany, production and uses. 1st edition. *CABI Publishing*, Londres.
- Kosińska, A., Karamać, M., Estrella, I., Hernández, T., Bartolomé, B., y Dykes, G. A. (2012). Phenolic compound profiles and antioxidant capacity of *Persea americana* Mill. peels and seeds of two varieties. *J. Agric. Food Chem.*, **60**(18), 4613-4619.
- Ledesma Escobar, C.A. (2011). Metabolómica como herramienta para el estudio de cítricos. Tesis de Doctorado en Alimentos. Instituto Tecnológico de Veracruz. Veracruz, México.
- Ledesma Escobar, C.A. (2011). Efecto de la extracción sobre las características antioxidantes de los extractos obtenidos de cortezas de limón persa *Citrus latifolia* Tanaka. Tesis de Maestría en Ciencias en Ingeniería Bioquímica. Instituto Tecnológico de Veracruz. Veracruz, México.
- Lewis C. (1978). The maturity of avocados a general review. *J. Sci. Food Agric.*, **29**, 857-866.
- Li, H., Pordesimo, L., y Weiss, J. (2004). High intensity ultrasound-assisted extraction of oil from soybeans. *Food Res. Int.*, **37**(7), 731-738.
- López-Lara, L.I. (2014). Extracción supercrítica de compuestos antioxidantes del tegumento y semilla de aguacate *Persea americana* mill variedad Hass. Tesis de Maestría en Ciencias en Ingeniería Bioquímica. Instituto Tecnológico de Veracruz. Veracruz, México.
- Ma. Y., Ye. X., Hao Y., Xu G., Liud. (2008). Phenolic compounds and antioxidant activity of extracts from ultrasonic treatment of Satsuma Mandarin (*Citrus unshiu* Marc.) peels. *J. Agric. Food Chem.*, **56**, 5682-90.
- Martens S. y Mithöfer A. (2005). Flavones and flavone synthases. *Phytochemistry*, **66**(20): 2399-2407.
- Martínez, V. I., Periago, M. J. y Ros. G. (2000). Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. Archivos latinoamericanos de nutrición. **50**(1):1-19.
- Mason, T. J., Paniwnyk, L., y Lorimer, J. P. (1996). The uses of ultrasound in food technology. *Ultrason. Sonochem.*, **3**(3), S253-S260.

- Mishra, K., Ojha, H., y Chaudhury, N. K. (2012). Estimation of antiradical properties of antioxidants using DPPH assay: A critical review and results. *Food Chem.*, **130**(4), 1036-1043.
- Moreiras, O., Carbajal, A., Cabrera, L., y Cuadrado, C. (2013). Tabla de composición de Alimentos. Ediciones Pirámide. 16° edición. 455 p.
- Moreno Gómez, E. (2014). Análisis nutricional y estudio de la actividad antioxidante de algunas frutas tropicales cultivadas en Colombia (Doctoral dissertation, Universidad Nacional de Colombia).
- Ortega, A. y Pino, J. A. (1997). Los constituyentes volátiles de las frutas tropicales. II. Frutas de las especies de *Carica*. *Alimentaria*, (286), 27-40.
- Ozdemir, F., y Topuz, A. (2004). Changes in dry matter, oil content and fatty acids composition of avocado during harvesting time and post-harvesting ripening period. *Food Chem.*, **86**(1), 79-83.
- Patti, G. J., Yanes, O., y Siuzdak, G. (2012). Innovation: Metabolomics: the apogee of the omics trilogy. *Nature reviews Molecular cell biology*, **13**(4), 263.
- Paulson, A. T., Vanderstoep, J., y Porritt, S. W. (1980). Enzymatic browning of peaches: Effect of gibberellic acid and ethephon on phenolic compounds and polyphenoloxidase activity. *J. Food Sci.*, **45**(2), 341-345.
- Pino, J.A, Marbot, R., Rosado, A. y Fuentes, V. (2004). Volatile components of avocado (*Persea americana* Mill) cv Moro grown in Cuba. *J. Essent. Oil. Res.* **16**(2), 139-140.
- PROHACIENDO (2001). Corporación para la promoción del desarrollo rural y agroindustrial del Tolima. "El cultivo de aguacate". Módulo para el desarrollo tecnológico de la comunidad rural, Ibagué.
- Putri S.P., Nakayama Y., Matsuda F., Uchikata T., Kobayashi S., Matsubara A. y Fukusaki E. (2013). Current metabolomics: Practical applications. *Journal of Bioscience and Bioengineering* , **115**(6): 579-589.
- Puupponen-Pimiä, R.; Nohynek, L.; Hartmann-Shmidlin, S.; Kähkö, M.; Heinonen, M.; Määtä-Riihinen, K.; Oksman-Caldentey, K. Mm. (2005). Berry phenolics selectively inhibit the growth of intestinal pathogens. *J. Appl. Microbiol.* 98, 991-1000.
- Ratovohery, J.V.; Lozano, Y.F. and Gaydoy, E.M. (1998). Fruit development effect on fatty acid composition of *Persea Americana* fruit mesocarp. *J. Agric. Food Chem.*, **36**:287-293.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., y Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic. Biol. Med.*, **26**(9), 1231-1237.
- Requejo-Tapia, L. C. (1999). *International trends in fresh avocado and avocado oil production and seasonal variation of fatty acids in New Zealand-grown cv. Hass*. (Doctoral dissertation, Massey University).

Reyes-García, M. Gómez-Sánchez I., y Espinoza-Barrientos, C. (2013) Tablas peruanas de composición de alimentos. 9na. Ed. Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud. Lima.

Reyes- García, M., Gómez- Sánchez Prieto, I., Espinoza-Barrientos, C., Bravo-Rebatta, F., y Ganoza-Morón, L. (2009). Tablas peruanas de composición de alimentos. (8va. Ed.). Lima:Ministerio de Salud-Instituto Nacional de Salud. 64 p.

Rodríguez-Carpena, J. G., Morcuende, D., Andrade, M. J., Kylli, P., y Estévez, M. (2011). Avocado (*Persea americana* Mill.) phenolics, in vitro antioxidant and antimicrobial activities, and inhibition of lipid and protein oxidation in porcine patties. *J. Agric. Food Chem.*, **59**(10), 5625-5635.

Rotelli, A. E.; Guardia, T.; Juárez, A.; de la Rocha, N. E.; Pelzer, L. E. (2003). Comparative study of flavonoids in experimental models of inflammation. *Pharmacol. Res.* 48, 601-606.

Saavedra, S. (1995). Evolución de parámetros físico-químicos y sensoriales en paltas cvs. "Hass, Gwen y Whitsell". Tesis de Licenciatura en Ingeniería Agrónoma, Universidad Católica de Valparaíso, Chile.

Scagel. R.E., Bandoni, R.J., Rouse, G.E., Schofield, W.B., Stein, J.R., Taylor, T.M. C. (1987). El reino vegetal. Editorial Omega. Traducción de Joan Ayala. Barcelona, España. pp.297, 516, 661, 662.

Schuster B. y Herrmann K. (1985). Hydroxybenzoic and hydroxycinnamic acid derivatives in soft fruits. *Phytochemistry*, **24**(11): 2761-2764.

Sefidkon, F., Abbasi, K., y Khaniki, G. B. (2006). Influence of drying and extraction methods on yield and chemical composition of the essential oil of *Satureja hortensis*. *Food Chem.*, **99**(1), 19-23.

Sen CK, Khanna S, Gordillo G, Bagchi D, Bagchi M y Roy S. (2002). Oxygen, Oxidants, and Antioxidants in Wound Healing: A Emerging Paradigm. *Ann. N. Y. Acad Sci*, 957:239-249.

Shammugasamy, B., Ramakrishnan, Y., Ghazali, H. M., y Muhammad, K. (2013). Combination of saponification and dispersive liquid-liquid microextraction for the determination of tocopherols and tocotrienols in cereals by reversed-phase high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. A*, 1300, 31-37.

Shuntaro Tsubaki, Hiroyuki Iida, Masahiro Sakamoto, Jun-Ichi Azuma. (2008). Microwave Heating of Tea Residue Yields Polysaccharides, Polyphenols, and Plant Biopolyester. *J. Agric. Food Chem.*, 56, 11293– 11299

Soria, A. C., y Villamiel, M. (2010). Effect of ultrasound on the technological properties and bioactivity of food: a review. *Trends Food Sci. Technol.*, **21**(7), 323-331.

Tangolar, S. G., Özogul, F., Tangolar, S., y Yağmur, C. (2011). Tocopherol content in fifteen grape varieties obtained using a rapid HPLC method. *J. Food Compos. Anal.*, **24**(4), 481-486.

Tovar, M. Á. O. (2003). Valor nutrimental de mesocarpio fresco de aguacate Hass. In Proceedings V World Avocado Congress (Actas V Congreso Mundial del Aguacate), 741-748.

Tsimidou, M. (2010). Squalene and tocopherols in olive oil: importance and methods of analysis. *Olives and Olive Oil in Health and Disease Prevention*, 561-567.

USDA. (Mayo de 2016). USDA (U.S. Department of Agriculture) National Nutrients Database for Standard Reference. Release 28. Recuperado el Junio de 2016, de <http://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/2175>.

Valente, A., Albuquerque, T. G., Sanches-Silva, A., y Costa, H. S. (2011). Ascorbic acid content in exotic fruits: A contribution to produce quality data for food composition databases. *Food Res. Int.*, **44**(7), 2237-2242.

Vasco, C., Ruales, J., y Kamal-Eldin, A. (2008). Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador. *Food chemistry*, 111(4), 816-823.

Vilkhu, K., Mawson, R., Simons, L., y Bates, D. (2008). Applications and opportunities for ultrasound assisted extraction in the food industry—A review. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, **9**(2), 161-169.

Xia, T., Shi, S., y Wan, X. (2006). Impact of ultrasonic-assisted extraction on the chemical and sensory quality of tea infusion. *J. Food Eng.*, **74**(4), 557-560.

Wang, W., Bostic, T. R., y Gu, L. (2010). Antioxidant capacities, procyanidins and pigments in avocados of different strains and cultivars. *Food Chem.*, **122**(4), 1193-1198.

Wildman, R.E.C. (2001). Handbook of Nutraceuticals and Functional Foods. *CRC Series in Modern Nutrition*. CRC Press, Westpor.

Wu G. (2009). Amino acids: Metabolism, functions, and nutrition. *Amino Acids* **37**(1): 1-17.

Zavaleta, V. A. C., y Sánchez, N. I. C. (2014). Validación de la metodología analítica para determinar la cuantificación de taninos en la pepa de palta (*Persea americana Miller* var. Hass) por cromatografía líquida de alta presión. *Industrial Data*, **17**(2), 99-104.

Zhang, A., Sun, H., Wang, P., Han, Y., Wang, X. (2012). Modern analytical techniques in metabolomics analysis. *Analyst*. 137, pp. 293–300.

Zhang, H. F., Yang, X. H., y Wang, Y. (2011). Microwave assisted extraction of secondary metabolites from plants: current status and future directions. *Trends Food Sci. Technol.*, **22**(12), 672-688.

Zuleta A., Esteve M., Frigola A. (2009). ORAC and TEAC assays comparison to measure the antioxidant capacity of food products. *Food Chem.*, 114: 310-316.

8 ANEXOS

ANEXO 1: Curvas de calibración

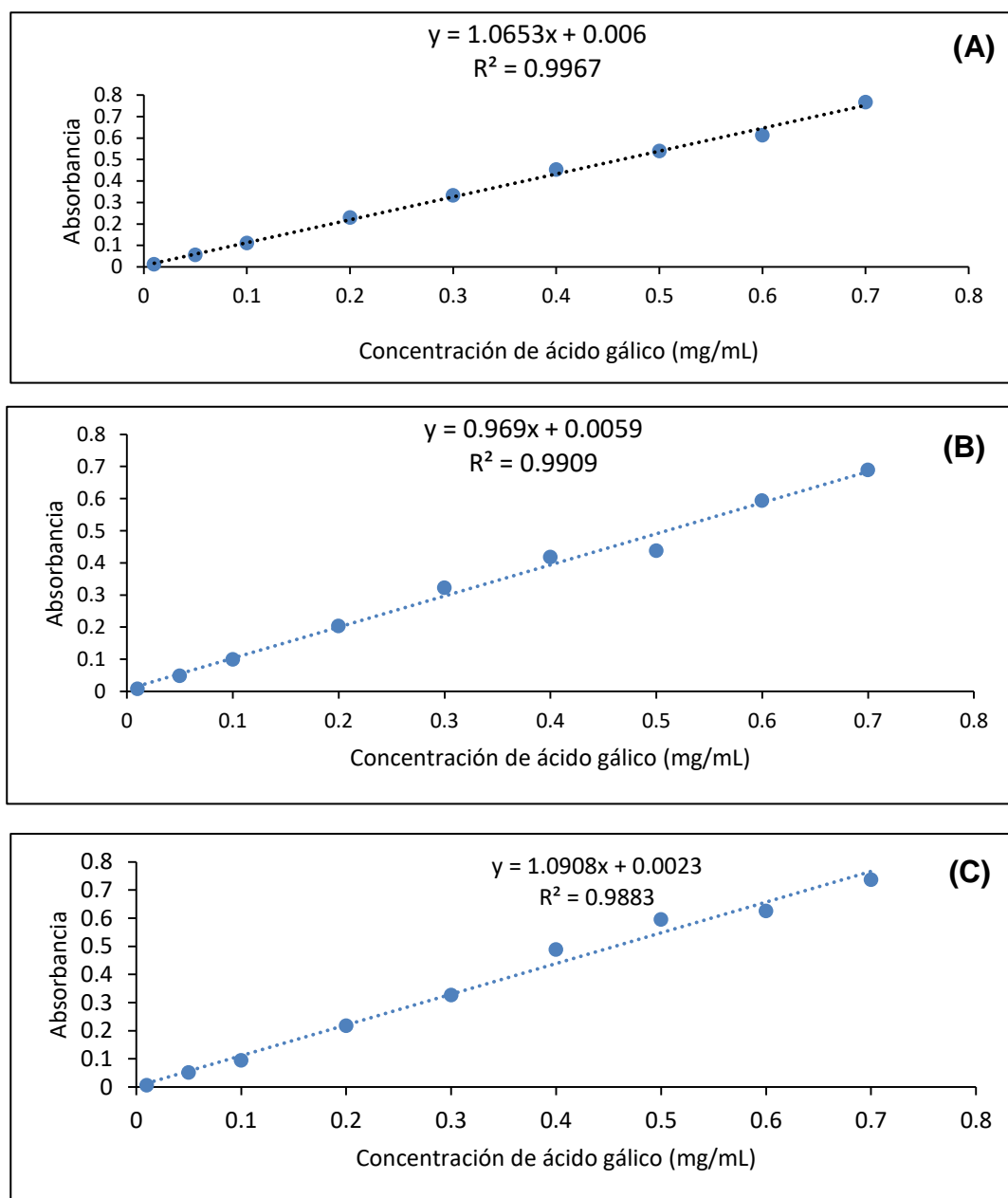


FIGURA 8-1 Curvas de calibración para la cuantificación de fenoles totales en extractos de (A) epicarpio, (B) semilla y (C) mesocarpio de aguacate var. Hass obtenidos con asistencia de ultrasonidos.

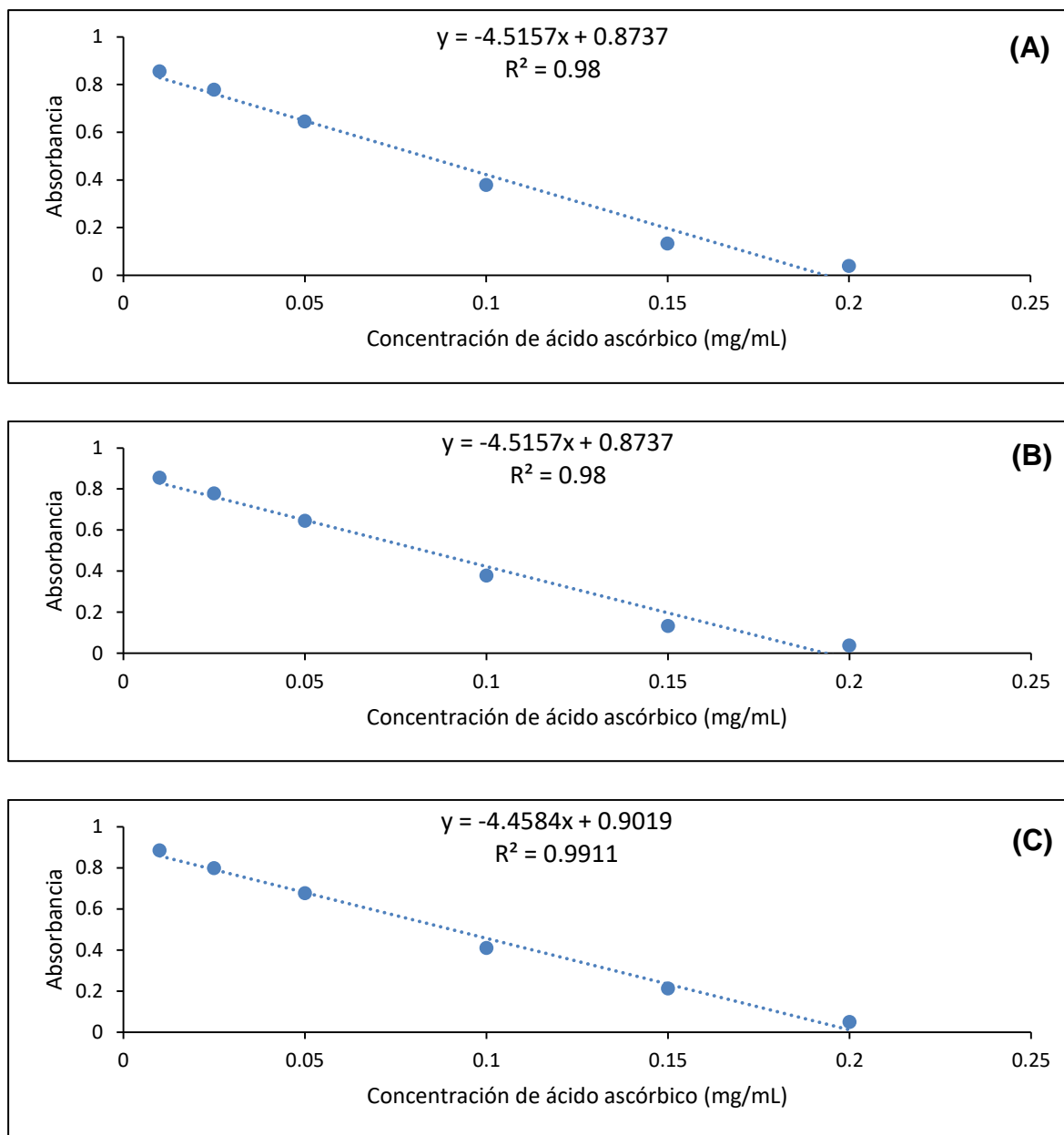


FIGURA 8-2 Curvas de calibración para la cuantificación de actividad antirradical (DPPH) en extractos de (A) epicarpio, (B) semilla y (C) mesocarpio de aguacate var. Hass obtenidos con asistencia de ultrasonidos.

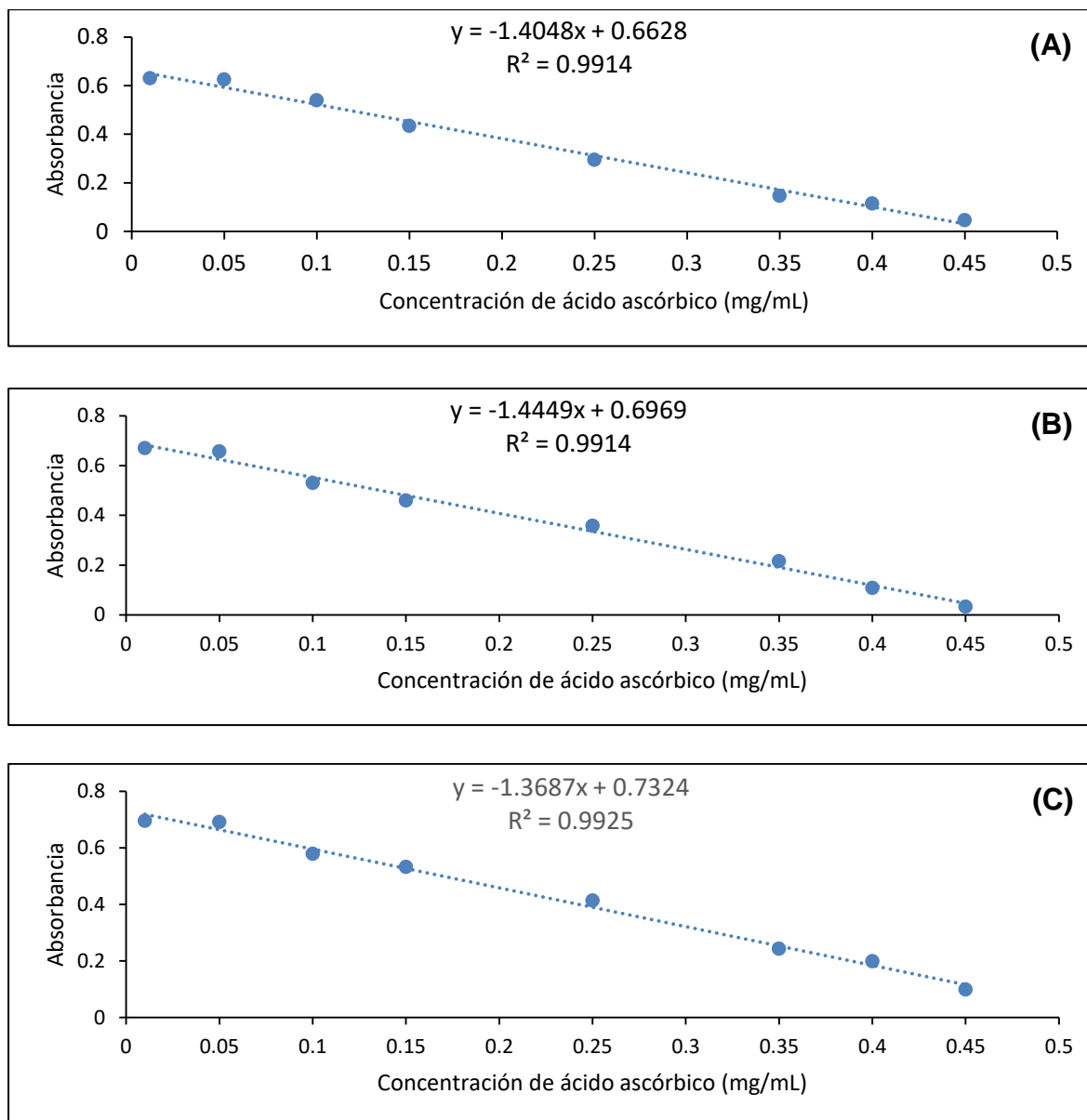


FIGURA 8-3 Curvas de calibración para la cuantificación de actividad antirradical (ABTS) en extractos de (A) epicarpio, (B) semilla y (C) mesocarpio de aguacate var. Hass obtenidos con asistencia de ultrasonidos.

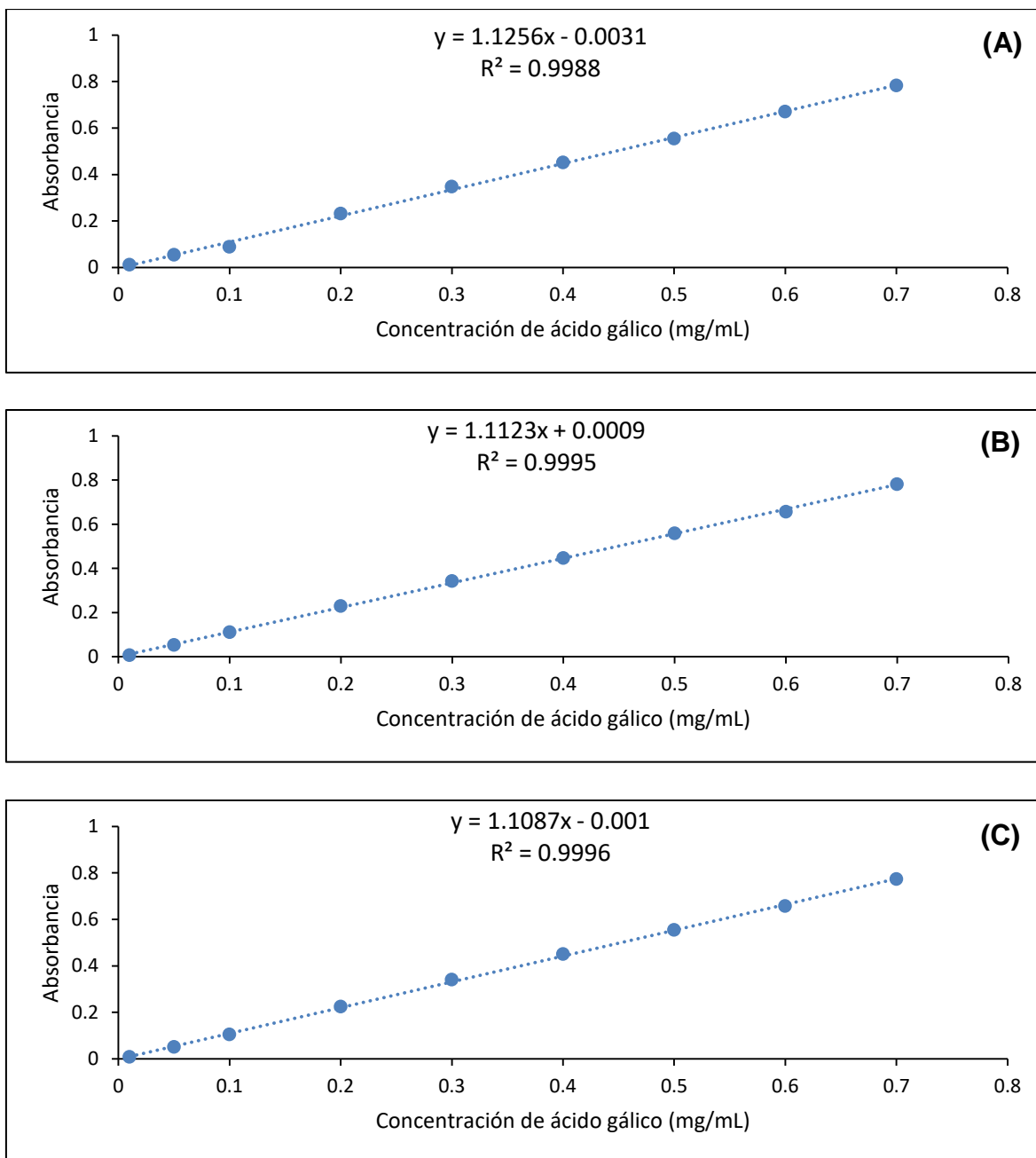


FIGURA 8-4 Curvas de calibración para la cuantificación de compuestos fenólicos en extractos de (A) epicarpio, (B) semilla y (C) mesocarpio de aguacate var. Hass obtenidos con asistencia de microondas.

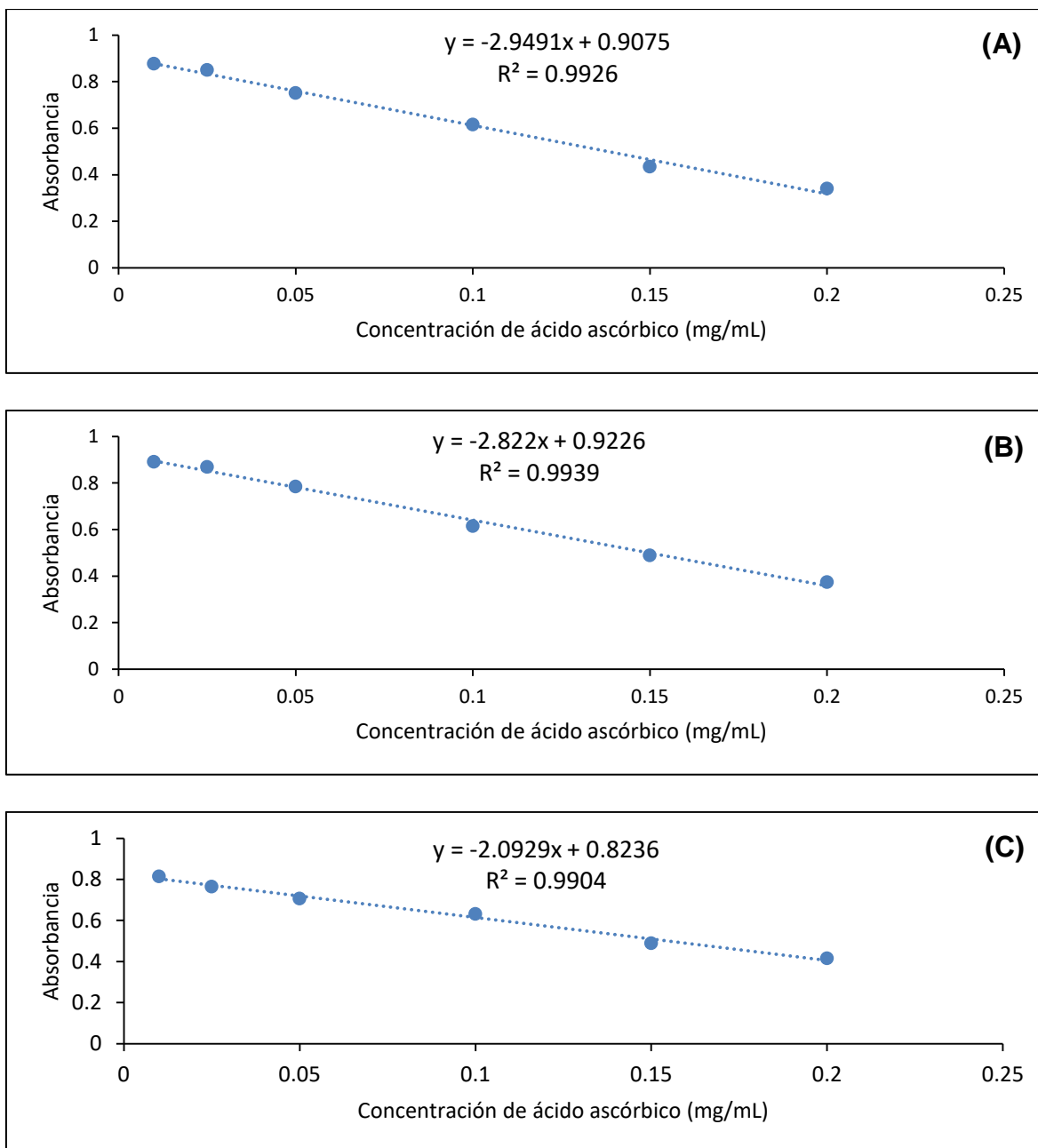


FIGURA 8-5 Curvas de calibración para la cuantificación de actividad antirradical DPPH en extractos de (A) epicarpio, (B) semilla y (C) mesocarpio de aguacate var. Hass obtenidos con asistencia de microondas.

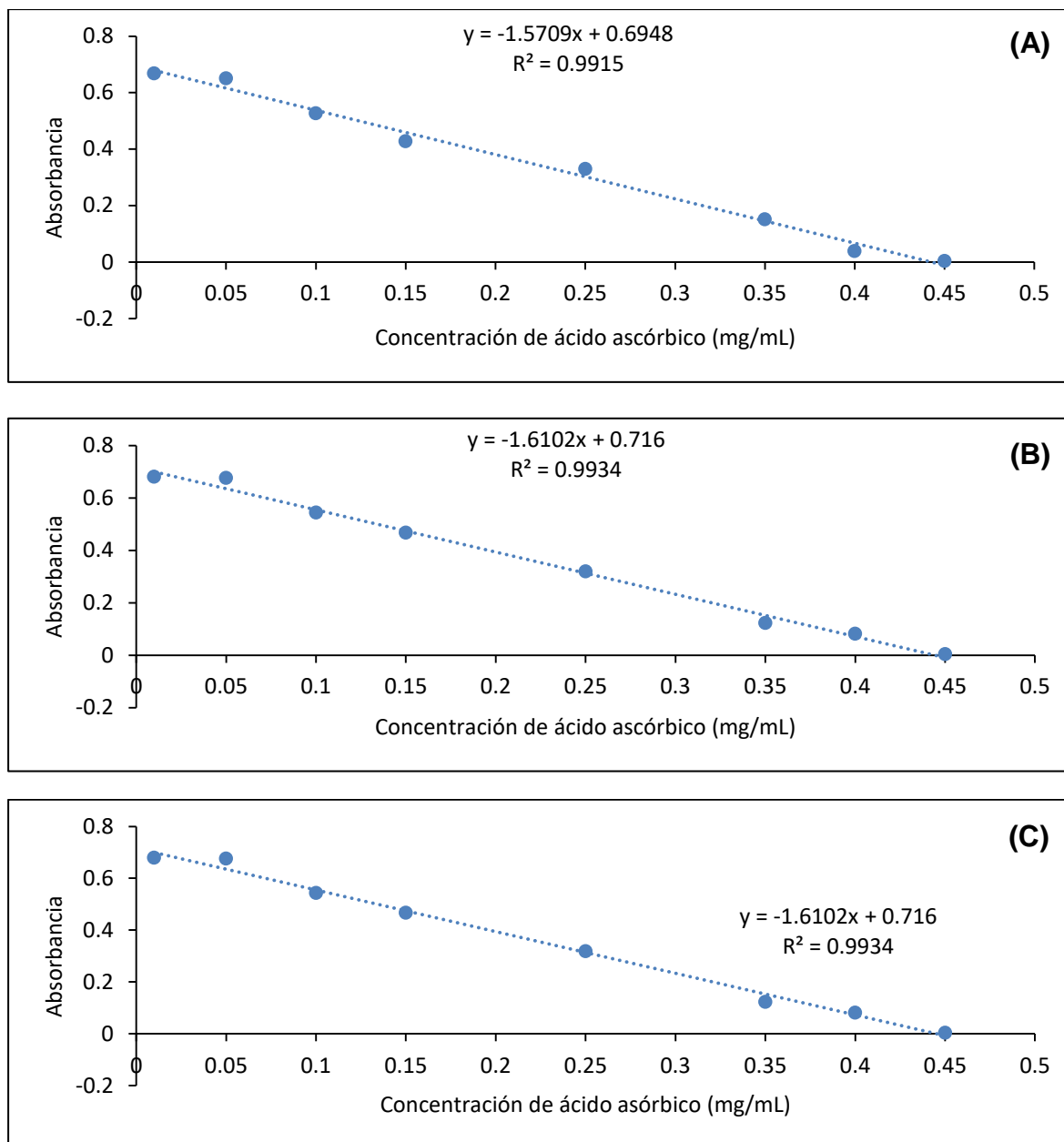


FIGURA 8-6 Curvas de calibración para la cuantificación de actividad antirradical ABTS en extractos de (A) epicarpio, (B) semilla y (C) mesocarpio de aguacate var. Hass obtenidos con asistencia de microondas.

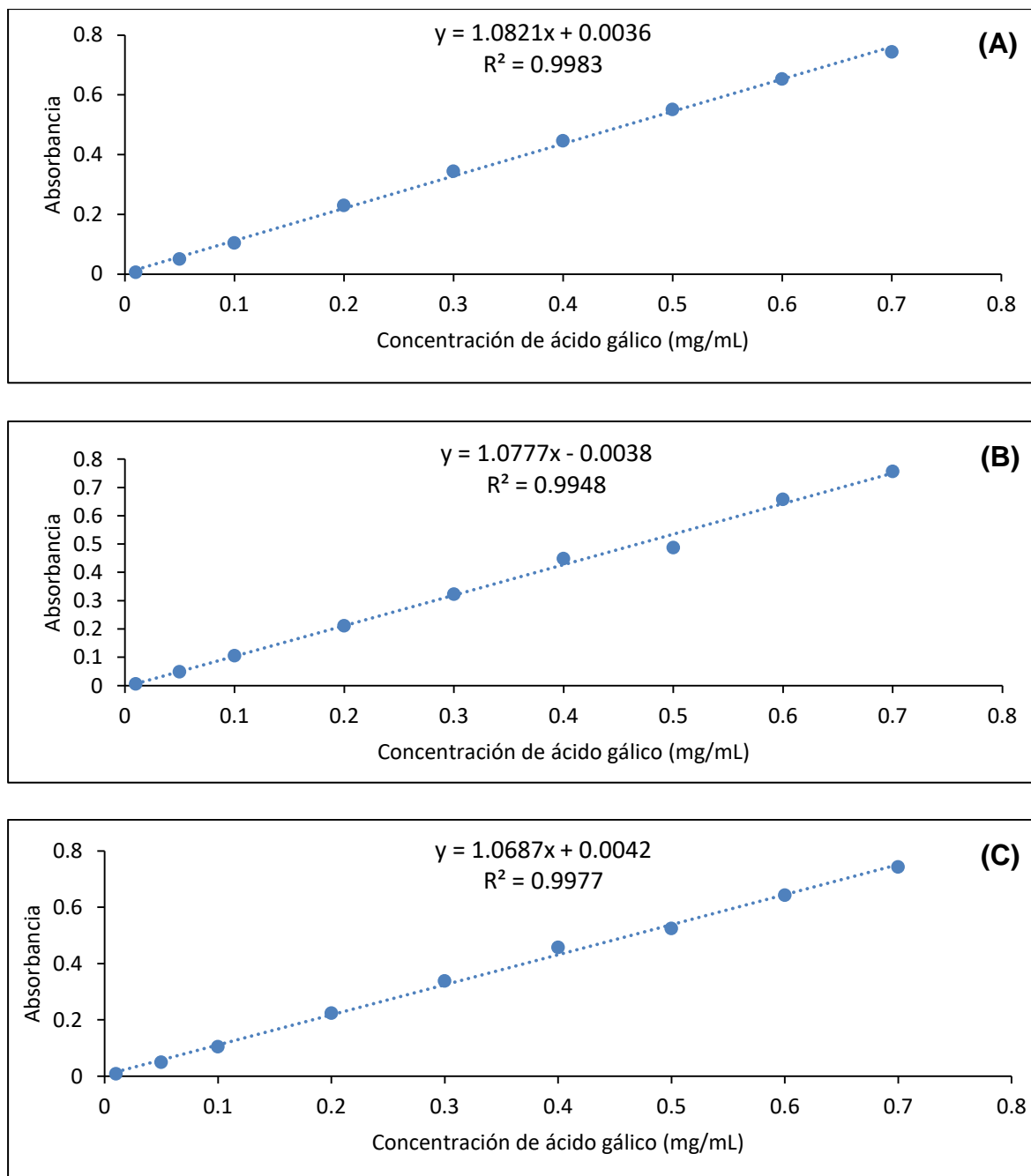


FIGURA 8-7 Curvas de calibración para la cuantificación de compuestos fenólicos en extractos de (A) epicarpio, (B) semilla y (C) mesocarpio de aguacate var. Hass obtenidos por agitación.

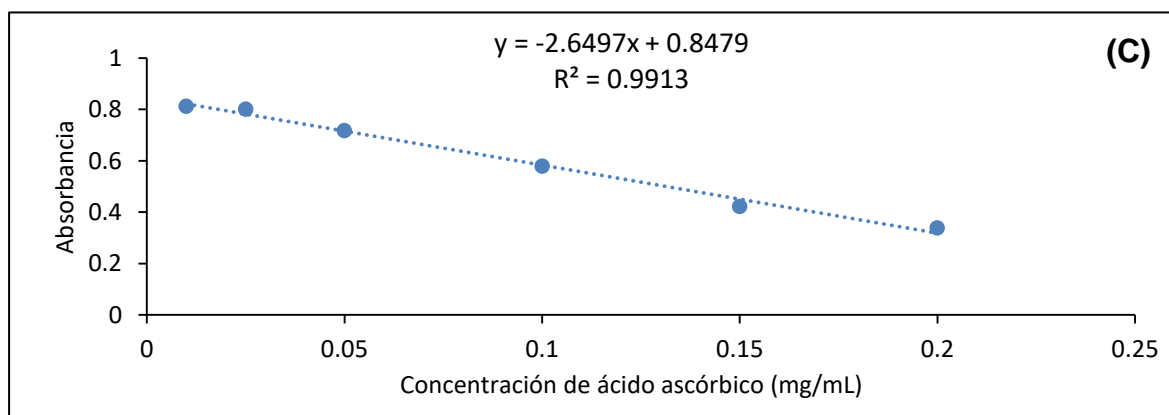
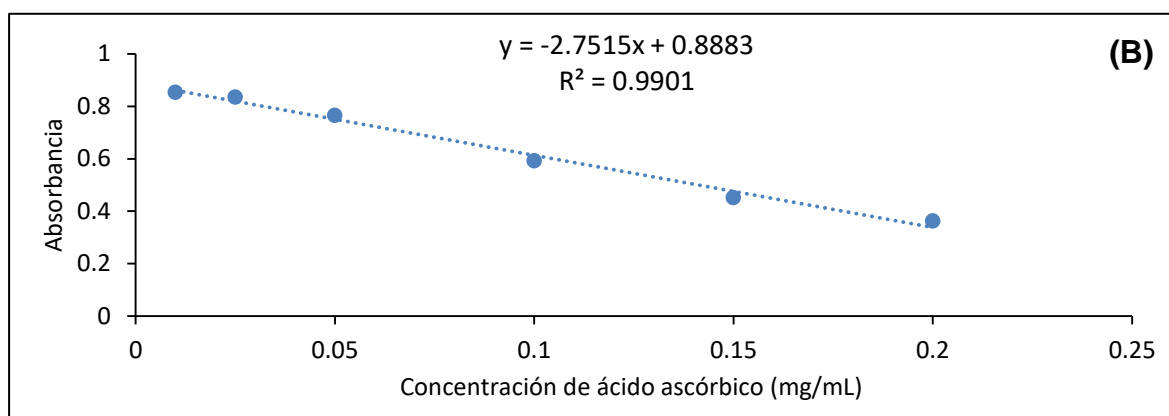
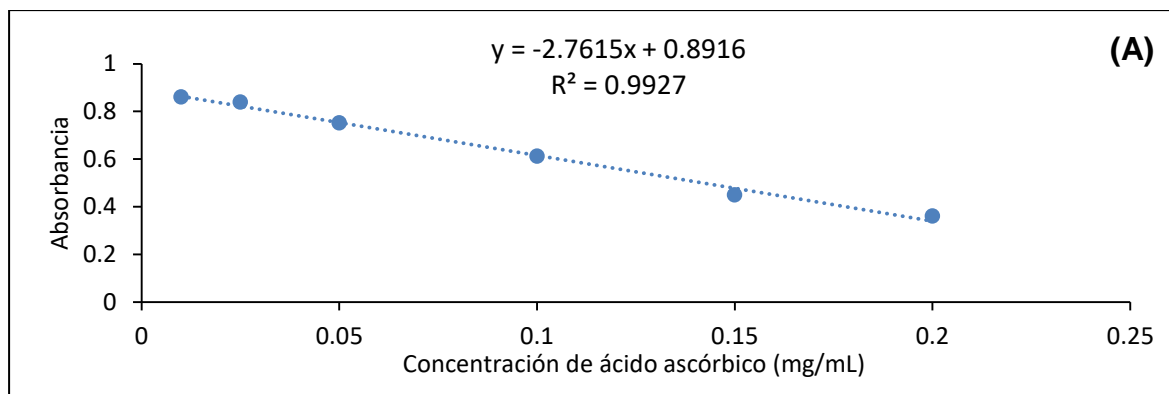


FIGURA 8-8 Curvas de calibración para la cuantificación de actividad antirradical DPPH en extractos de (A) epicarpio, (B) semilla y (C) mesocarpio de aguacate var. Hass obtenidos por agitación.

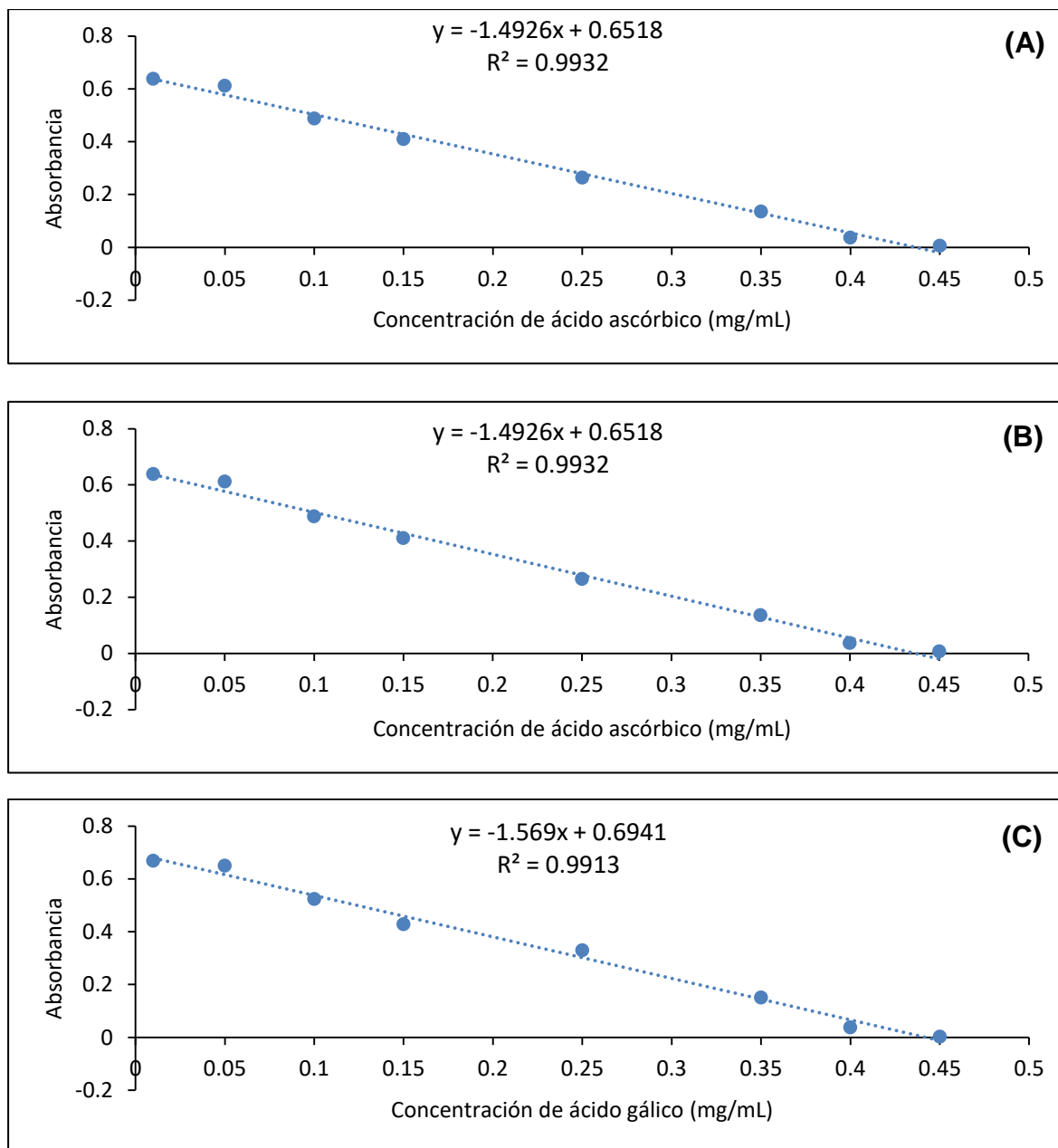


FIGURA 8-9 Curvas de calibración para la cuantificación de actividad antirradical ABTS en extractos de (A) epicarpio, (B) semilla y (C) mesocarpio de aguacate var. Hass obtenidos por agitación.

ANEXO 2: Correlaciones de las variables de optimización de la extracción de epicarpio, mesocarpio y semilla de aguacate var. Hass asistida con ultrasonidos

TABLA 8-1: Correlaciones de las variables de optimización de la extracción de epicarpio de aguacate var. Hass asistida con ultrasonidos.

	Tiempo	Amplitud	Ciclo útil	DPPH	FT	ABTS	ST	PICO 1	PICO 2	PICO 3	PICO 4	PICO 5	PICO 6	PICO 7	PICO 8	PICO 9	PICO 10
Tiempo		-0.065	0.000	-0.306	-0.172	-0.046	-0.055	-0.273	-0.169	-0.009	-0.214	-0.218	-0.277	-0.252	-0.357	-0.411	-0.180
Amplitud	-0.0646		0.000	0.013	-0.078	0.036	-0.127	0.335	0.108	0.118	0.138	0.111	0.136	0.215	0.030	0.031	0.213
Ciclo útil	0	0.000		0.332	0.211	0.310	0.024	0.238	-0.265	-0.329	0.235	0.278	0.262	0.223	0.081	0.184	-0.213
DPPH	-0.3061	0.013	0.332		0.690	0.645	0.638	0.466	-0.360	-0.592	0.690	0.726	0.746	0.706	0.401	-0.238	-0.014
FT	-0.1722	-0.078	0.211	0.690		0.840	0.604	0.480	-0.365	-0.433	0.796	0.783	0.823	0.734	0.725	-0.257	0.085
ABTS	-0.0456	0.036	0.310	0.645	0.840		0.486	0.316	-0.448	-0.427	0.654	0.667	0.691	0.564	0.587	-0.288	0.000
ST	-0.0554	-0.127	0.024	0.638	0.604	0.486		0.339	-0.454	-0.454	0.629	0.647	0.631	0.608	0.435	-0.316	0.023
PICO 1	-0.2729	0.335	0.238	0.466	0.480	0.316	0.339		-0.182	-0.436	0.687	0.649	0.653	0.764	0.347	-0.130	0.062
PICO 2	-0.1692	0.108	-0.265	-0.360	-0.365	-0.448	-0.454	-0.182		0.571	-0.283	-0.346	-0.346	-0.491	0.014	0.531	0.670
PICO 3	-0.0086	0.118	-0.329	-0.592	-0.433	-0.427	-0.454	-0.436	0.571		-0.481	-0.528	-0.472	-0.588	0.096	0.585	0.503
PICO 4	-0.214	0.138	0.235	0.690	0.796	0.654	0.629	0.687	-0.283	-0.481		0.971	0.969	0.805	0.711	-0.200	0.182
PICO 5	-0.2179	0.111	0.278	0.726	0.783	0.667	0.647	0.649	-0.346	-0.528	0.971		0.977	0.823	0.690	-0.183	0.093
PICO 6	-0.2769	0.136	0.262	0.746	0.823	0.691	0.631	0.653	-0.346	-0.472	0.969	0.977		0.832	0.733	-0.165	0.137
PICO 7	-0.2521	0.215	0.223	0.706	0.734	0.564	0.608	0.764	-0.491	-0.588	0.805	0.823	0.832		0.464	-0.344	-0.113
PICO 8	-0.3573	0.030	0.081	0.401	0.725	0.587	0.435	0.347	0.014	0.096	0.711	0.690	0.733	0.464		0.244	0.503
PICO 9	-0.4105	0.031	0.184	-0.238	-0.257	-0.288	-0.316	-0.130	0.531	0.585	-0.200	-0.183	-0.165	-0.344	0.244		0.471
PICO 10	-0.1803	0.213	-0.213	-0.014	0.085	0.000	0.023	0.062	0.670	0.503	0.182	0.093	0.137	-0.113	0.503	0.471	

TABLA 8-2: Correlaciones de las variables de optimización de la extracción de mesocarpio de aguacate var. Hass asistida con ultrasonidos

	Tiempo	Amplitud	Ciclo útil	DPPH	FT	ABTS	ST	Pico 1	Pico 2	Pico 3	Pico 4	Pico 5	Pico 6
Tiempo		-0.065	0.000	-0.040	0.071	0.114	0.116	0.443	-0.276	-0.062	0.117	0.242	0.071
Amplitud	-0.065		0.000	0.208	0.480	-0.092	0.423	0.043	0.067	0.358	0.157	0.383	0.435
Ciclo útil	0.000	0.000		0.515	0.598	0.209	0.445	0.069	0.139	0.508	0.216	0.495	0.565
DPPH	-0.040	0.208	0.515		0.447	0.107	0.486	0.118	0.016	0.282	-0.120	0.222	0.318
FT	0.071	0.480	0.598	0.447		0.211	0.747	0.146	0.195	0.522	0.399	0.810	0.807
ABTS	0.114	-0.092	0.209	0.107	0.211		-0.106	0.095	0.197	-0.044	0.229	0.119	0.016
ST	0.116	0.423	0.445	0.486	0.747	-0.106		0.069	-0.054	0.303	0.070	0.614	0.616
Pico 1	0.443	0.043	0.069	0.118	0.146	0.095	0.069		-0.287	0.071	0.041	0.287	0.278
Pico 2	-0.276	0.067	0.139	0.016	0.195	0.197	-0.054	-0.287		0.218	0.504	-0.016	-0.023
Pico 3	-0.062	0.358	0.508	0.282	0.522	-0.044	0.303	0.071	0.218		0.364	0.339	0.418
Pico 4	0.117	0.157	0.216	-0.120	0.399	0.229	0.070	0.041	0.504	0.364		0.480	0.294
Pico 5	0.242	0.383	0.495	0.222	0.810	0.119	0.614	0.287	-0.016	0.339	0.480		0.892
Pico 6	0.071	0.435	0.565	0.318	0.807	0.016	0.616	0.278	-0.023	0.418	0.294	0.892	

TABLA 8-3: Correlaciones de las variables de optimización de la extracción de semilla de aguacate var. Hass asistida con ultrasonidos.

	Tiempo	Amplitud	Ciclo útil	DPPH	FT	ABTS	ST	PICO 1	PICO 2	PICO 3	PICO 4	PICO 5	PICO 6	PICO 7	PICO 8	PICO 9	PICO 10
Tiempo		-0.065	0.000	-0.124	0.254	-0.271	-0.025	0.074	0.043	0.173	-0.237	0.021	-0.020	0.008	0.069	0.125	-0.011
Amplitud	-0.065		0.000	-0.145	-0.081	-0.018	-0.146	0.090	0.353	0.106	0.266	-0.235	0.072	0.148	0.085	0.179	0.356
Ciclo útil	0.000	0.000		-0.006	0.373	0.025	0.150	-0.053	0.017	-0.043	0.039	-0.250	0.317	0.254	0.349	0.016	0.165
DPPH	-0.124	-0.145	-0.006		0.405	0.768	0.890	-0.100	-0.622	-0.508	-0.038	0.101	0.669	0.706	0.314	-0.474	-0.033
FT	0.254	-0.081	0.373	0.405		0.411	0.459	-0.028	-0.634	-0.012	-0.099	0.046	0.502	0.521	0.522	-0.059	0.061
ABTS	-0.271	-0.018	0.025	0.768	0.411		0.672	-0.130	-0.482	-0.320	-0.099	-0.010	0.486	0.508	0.115	-0.335	-0.099
ST	-0.025	-0.146	0.150	0.890	0.459	0.672		-0.205	-0.598	-0.560	-0.048	0.014	0.735	0.761	0.457	-0.503	-0.049
Pico 1	0.074	0.090	-0.053	-0.100	-0.028	-0.130	-0.205		0.206	0.791	0.249	0.103	0.159	0.191	-0.157	0.800	0.704
Pico 2	0.043	0.353	0.017	-0.622	-0.634	-0.482	-0.598	0.206		0.335	-0.017	-0.092	-0.399	-0.416	-0.406	0.357	0.140
Pico 3	0.173	0.106	-0.043	-0.508	-0.012	-0.320	-0.560	0.791	0.335		0.119	0.196	-0.166	-0.153	-0.223	0.908	0.523
Pico 4	-0.237	0.266	0.039	-0.038	-0.099	-0.099	-0.048	0.249	-0.017	0.119		0.025	0.130	0.153	0.058	0.138	0.251
Pico 5	0.021	-0.235	-0.250	0.101	0.046	-0.010	0.014	0.103	-0.092	0.196	0.025		-0.032	-0.041	-0.115	0.098	-0.039
Pico 6	-0.020	0.072	0.317	0.669	0.502	0.486	0.735	0.159	-0.399	-0.166	0.130	-0.032		0.966	0.707	-0.037	0.471
Pico 7	0.008	0.148	0.254	0.706	0.521	0.508	0.761	0.191	-0.416	-0.153	0.153	-0.041	0.966		0.718	-0.030	0.489
Pico 8	0.069	0.085	0.349	0.314	0.522	0.115	0.457	-0.157	-0.406	-0.223	0.058	-0.115	0.707	0.718		-0.061	0.391
Pico 9	0.125	0.179	0.016	-0.474	-0.059	-0.335	-0.503	0.800	0.357	0.908	0.138	0.098	-0.037	-0.030	-0.061		0.761
Pico 10	-0.011	0.356	0.165	-0.033	0.061	-0.099	-0.049	0.704	0.140	0.523	0.251	-0.039	0.471	0.489	0.391	0.761	

ANEXO 3: Cromatogramas de extractos de diferentes fracciones morfológicas obtenidos con los diferentes métodos de extracción

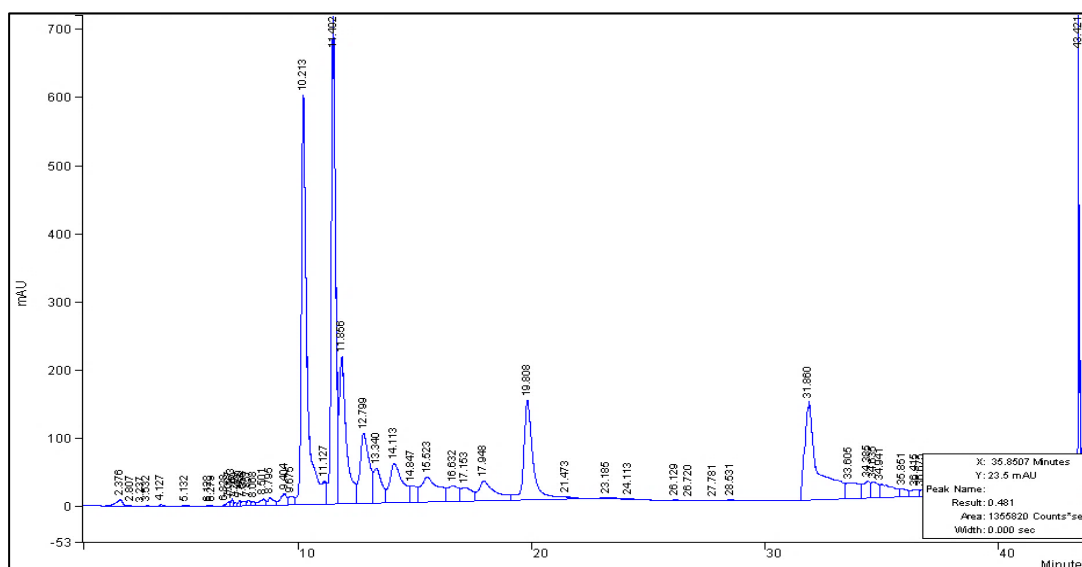


FIGURA 8-10 Cromatograma de extracto de epicarpio de aguacate Hass obtenido por asistencia con ultrasonidos durante 10 min con 10 % de amplitud y ciclo útil de 0.5 s/s.

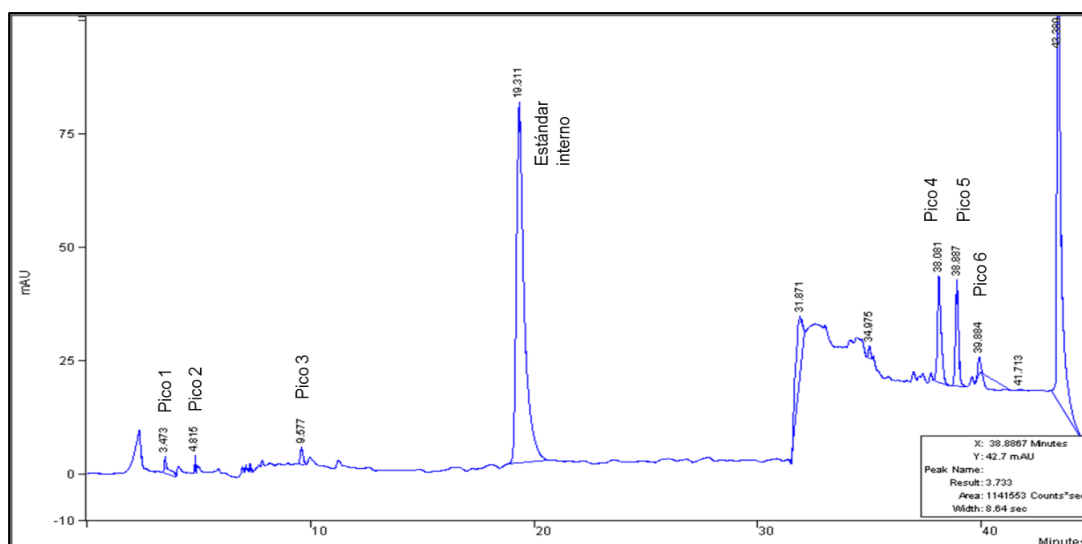


FIGURA 8-11 Cromatograma de extracto de mesocarpio de aguacate Hass obtenido por asistencia con ultrasonidos durante 10 min con 10 % de amplitud y ciclo útil de 0.5 s/s.

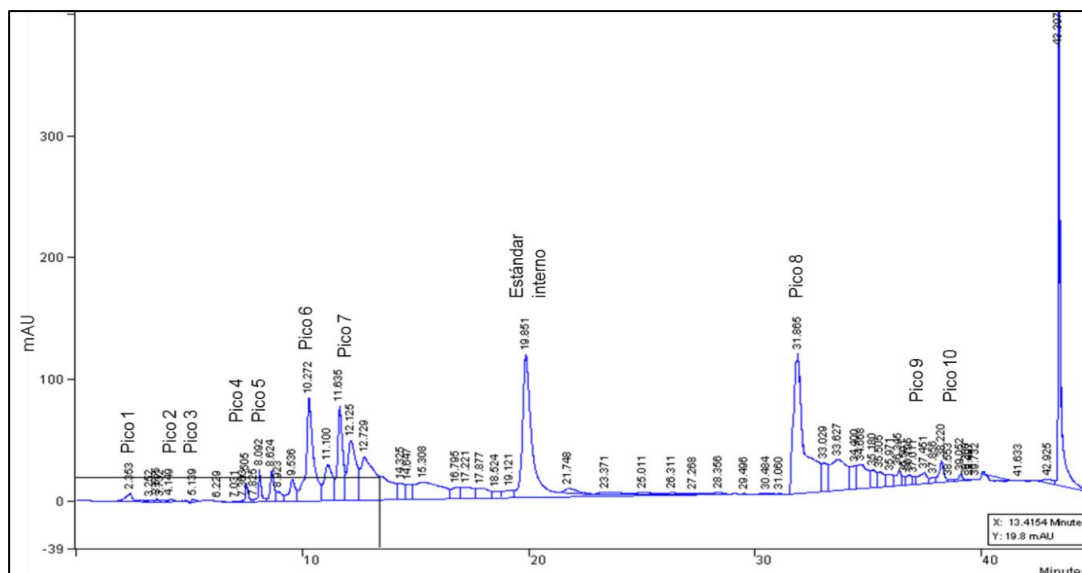


FIGURA 8-12 Cromatograma de extracto de semilla de aguacate Hass obtenido por asistencia con ultrasonidos durante 10 min con 10 % amplitud y ciclo útil de 0.5 s/s.

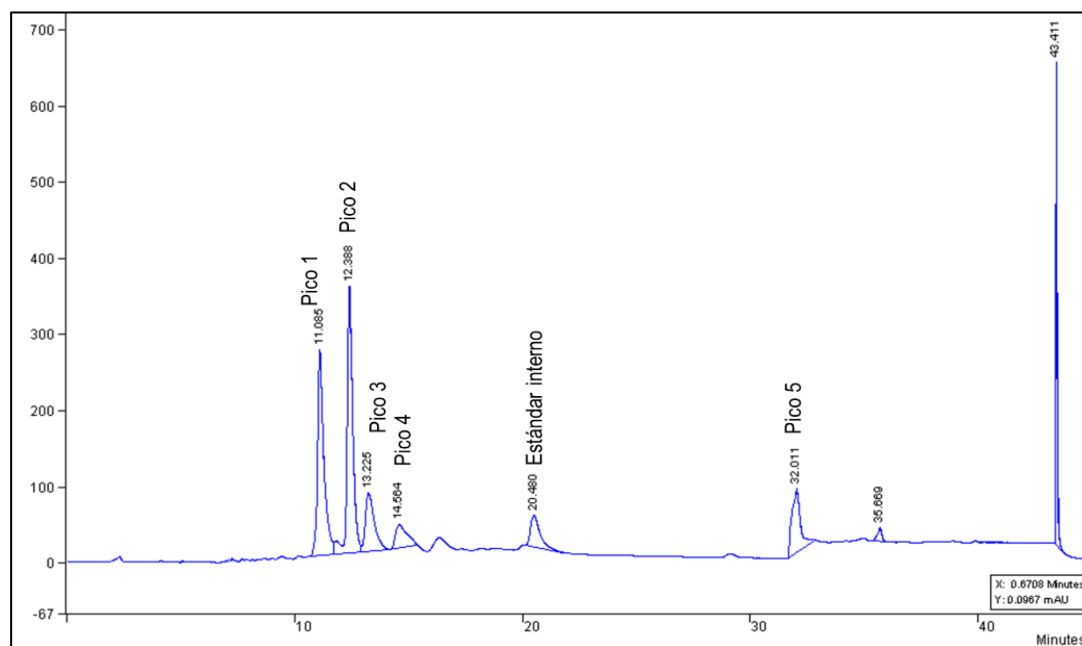


FIGURA 8-12 Cromatograma de extracto de epicarpio de aguacate var. Hass obtenido por asistencia con microondas con 10 ciclos de irradiación y 55 W de potencia.

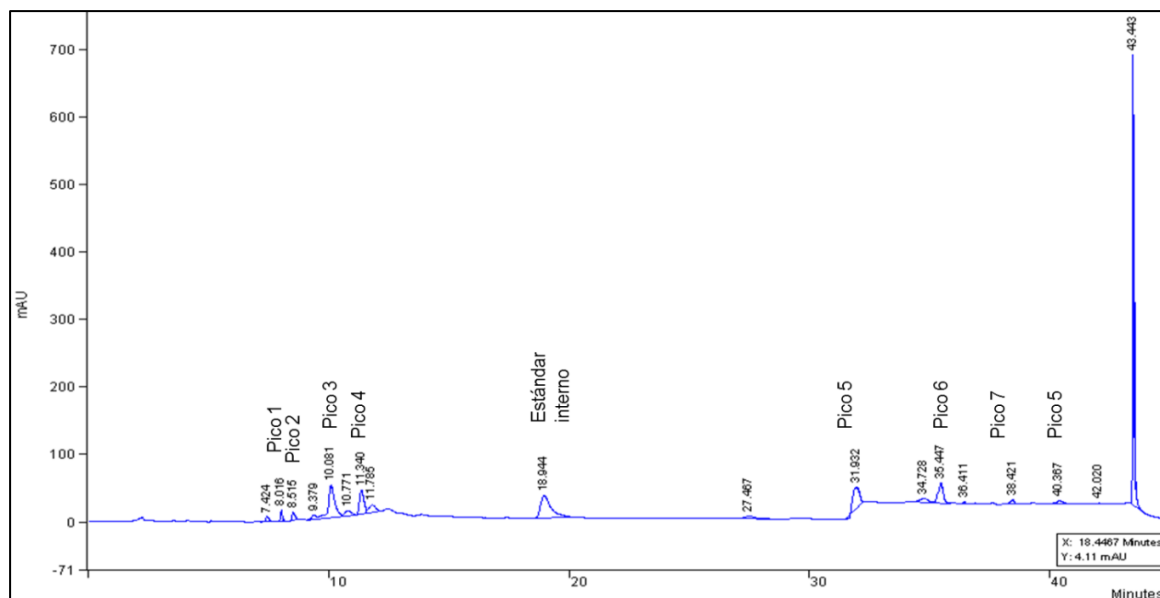


FIGURA 8-13 Cromatograma de extracto de semilla de aguacate var. Hass obtenido por asistencia con microondas con 10 ciclos de irradiación y 55 W de potencia.

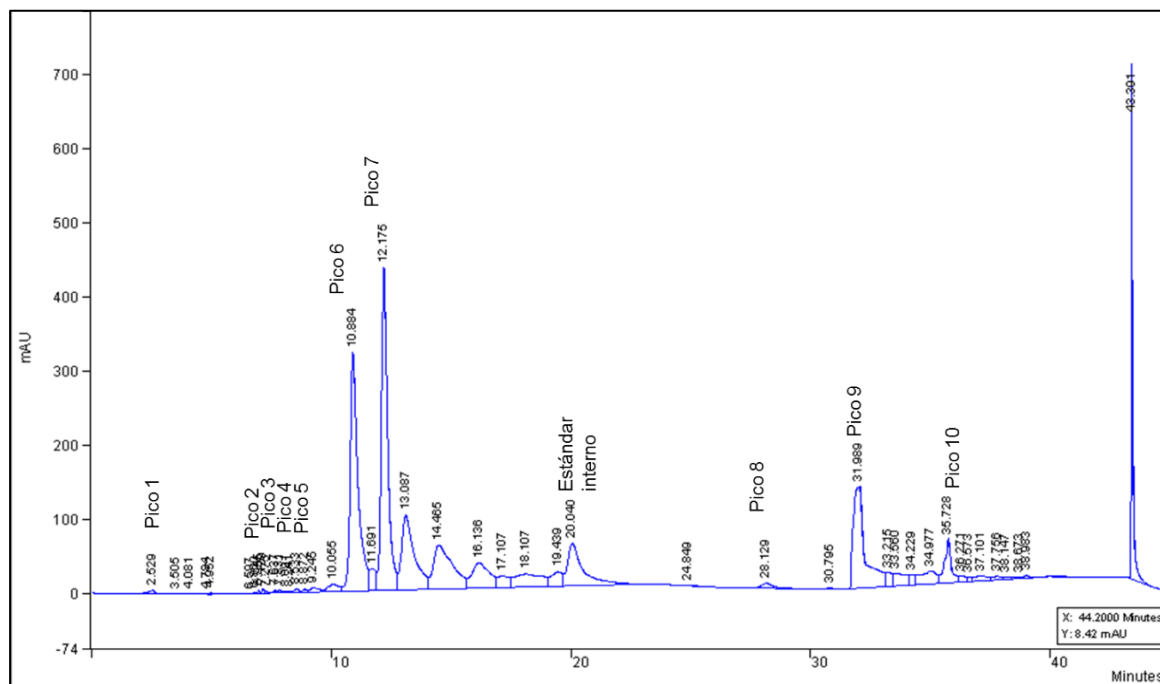


FIGURA 8-14 Cromatograma de extracto de epicarpio de aguacate var. Hass obtenido por agitación durante 10 min.

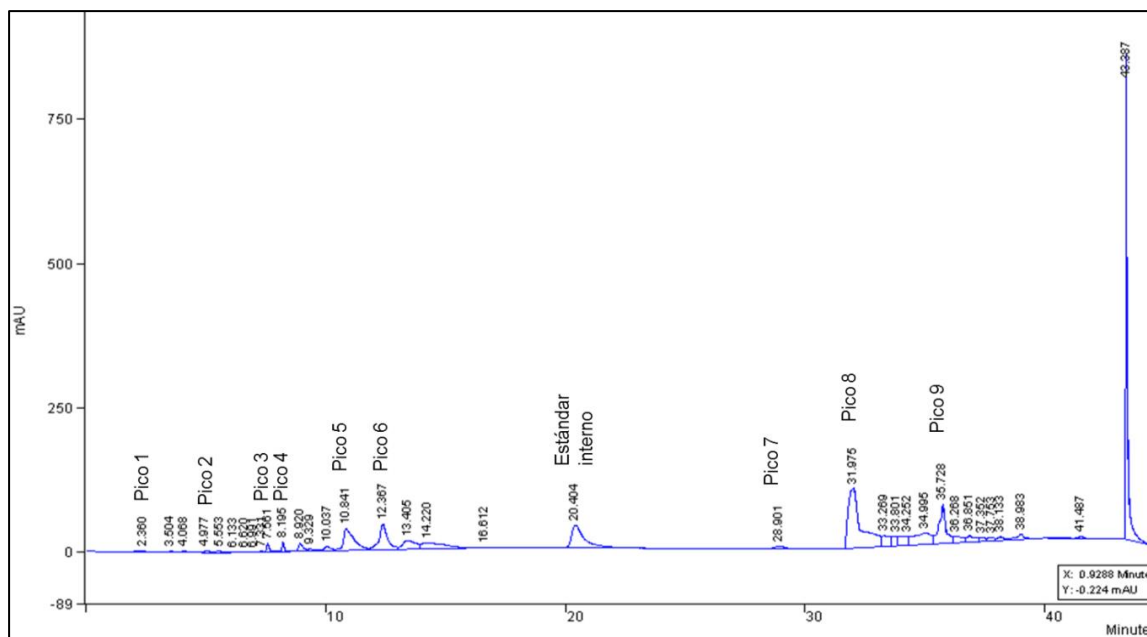


FIGURA 8-15 Cromatograma de extracto de semilla de aguacate var. Hass obtenido por agitación durante 10 min.

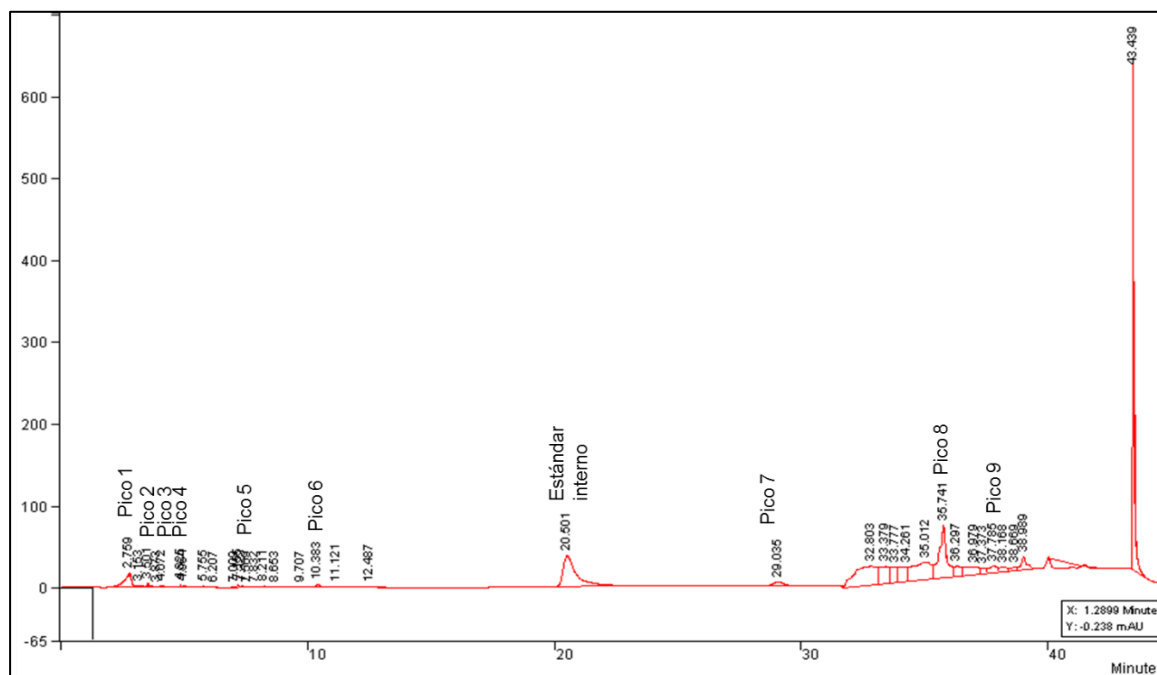


FIGURA 8-16 Cromatograma de extracto de mesocarpio de aguacate var. Hass obtenido por agitación durante 10 min.

ANEXO 4: Superficies de respuesta de las variables dependientes de la extracción de fracciones morfológicas de aguacate Hass asistida con ultrasonidos.

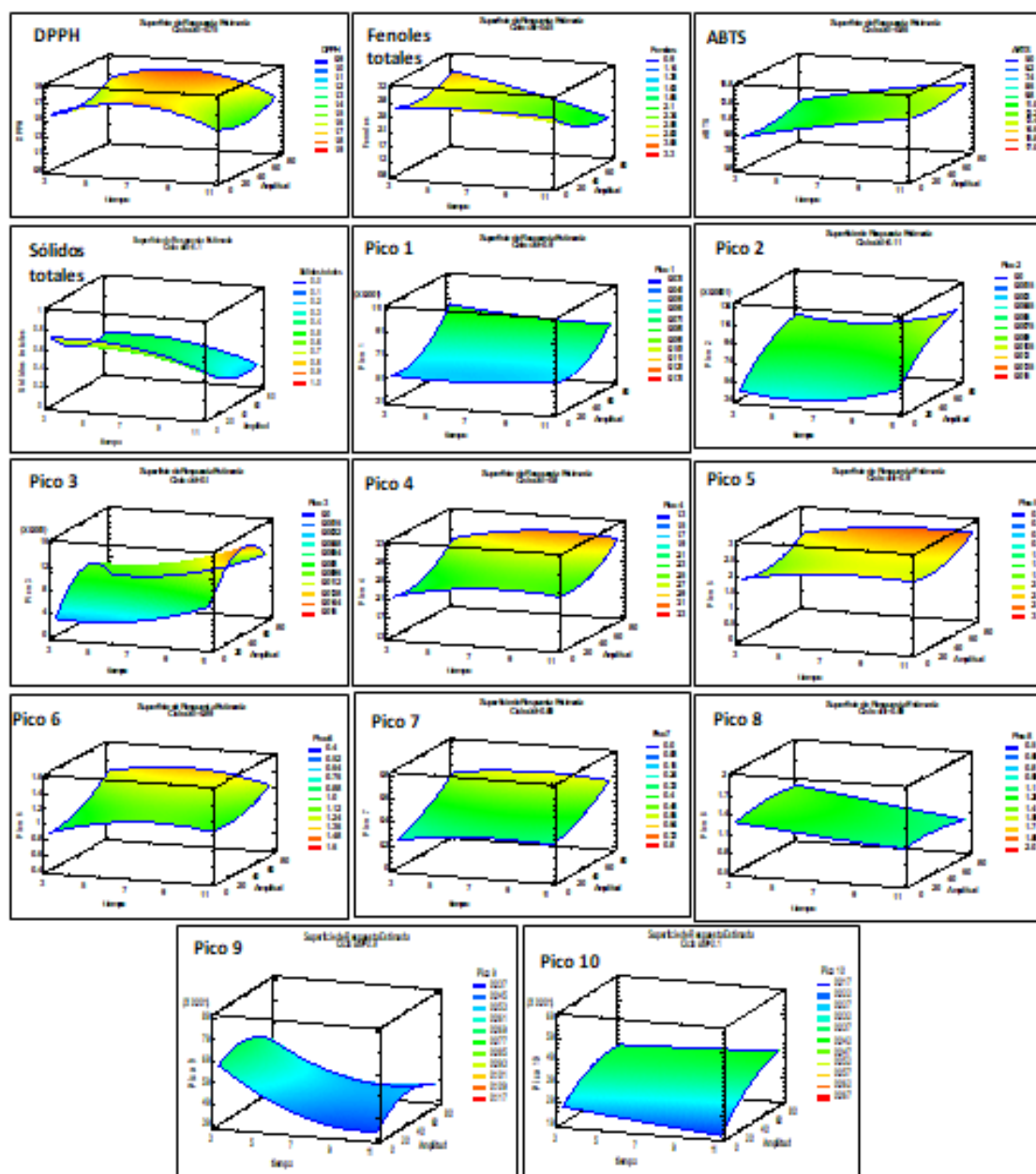


FIGURA 8-17 Efecto de las variables de extracción asistida con ultrasonidos de epicarpio de aguacate var. Hass sobre las variables de estudio.

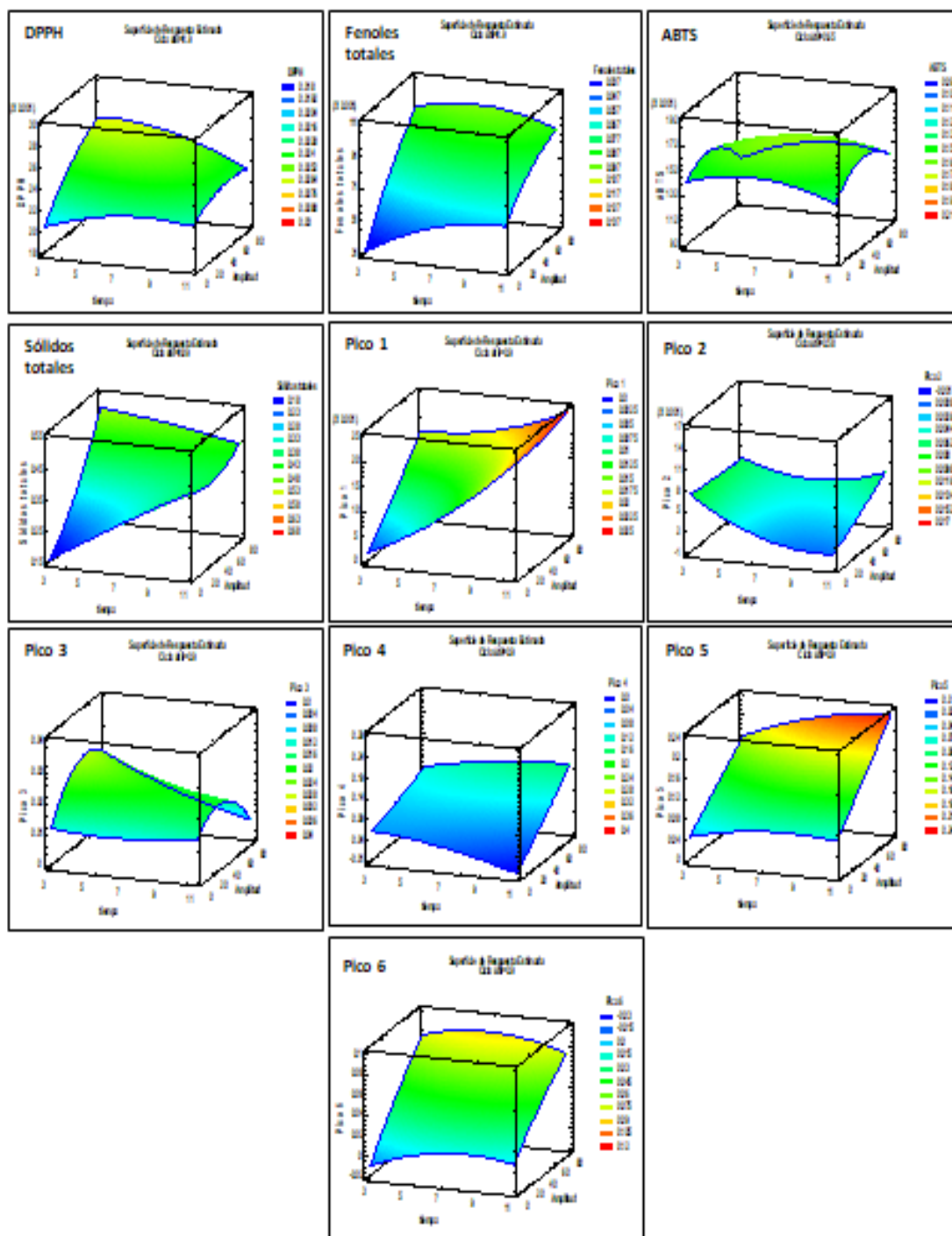


FIGURA 8-18 Efecto de las variables de extracción asistida con ultrasonidos de mesocarpio de aguacate var. Hass sobre las variables de estudio.

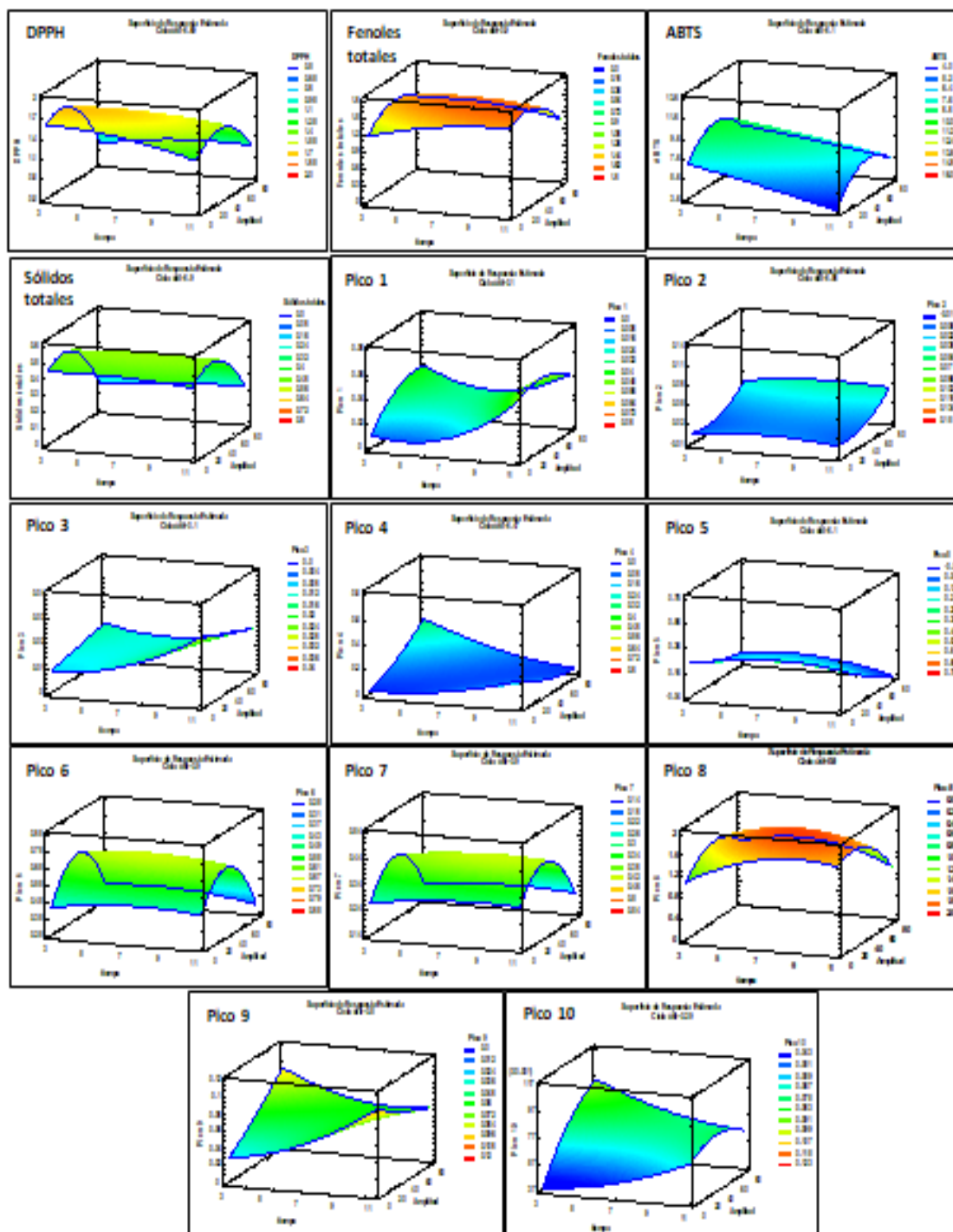


FIGURA 8-19 Efecto de las variables de extracción asistida con ultrasonidos de semilla de aguacate var. Hass sobre las variables de estudio.

ANEXO 5: Correlaciones de las variables de optimización de la extracción de epicarpio, mesocarpio y semilla de aguacate var. Hass asistida con microondas

TABLA 8-4: Correlaciones de las variables de optimización de la extracción de epicarpio de aguacate var. Hass asistida con microondas.

	Ciclos de irradiación	Potencia (W)	DPPH	FT	ABTS	ST	Pico 1	Pico 2	Pico 3	Pico 4	Pico 5
Ciclos de irradiación		0.000	0.394	-0.037	0.362	0.300	-0.196	-0.313	-0.172	0.106	-0.496
Potencia	0.000		0.642	0.412	0.779	0.894	0.435	0.193	0.458	0.653	-0.175
DPPH	0.394	0.642		0.492	0.765	0.771	0.427	0.267	0.458	0.626	-0.168
FT	-0.037	0.412	0.492		0.463	0.498	0.176	0.082	0.238	0.339	-0.192
ABTS	0.362	0.779	0.765	0.463		0.892	0.373	0.100	0.425	0.671	-0.373
ST	0.300	0.894	0.771	0.498	0.892		0.459	0.251	0.500	0.754	-0.317
Pico 1	-0.196	0.435	0.427	0.176	0.373	0.459		0.889	0.994	0.827	0.595
Pico 2	-0.313	0.193	0.267	0.082	0.100	0.251	0.889		0.866	0.608	0.695
Pico 3	-0.172	0.458	0.458	0.238	0.425	0.500	0.994	0.866		0.852	0.532
Pico 4	0.106	0.653	0.626	0.339	0.671	0.754	0.827	0.608	0.852		0.142
Pico 5	-0.496	-0.175	-0.168	-0.192	-0.373	-0.317	0.595	0.695	0.532	0.142	

TABLA 8-5: Correlaciones de las variables de optimización de la extracción de mesocarpio de aguacate var. Hass asistida con microondas.

	Ciclos de irradiación	Potencia	DPPH	FT	ABTS	ST	Pico 1	Pico 2	Pico 3	Pico 4	Pico 5	Pico 6	Pico 7
Ciclos de irradiación		0.000	0.046	0.413	0.136	0.288	-0.217	0.359	0.220	-0.213	-0.170	0.075	0.177
Potencia	0.000		0.811	0.403	0.615	0.664	0.114	0.168	0.440	0.022	-0.724	0.581	0.787
DPPH	0.046	0.811		0.437	0.550	0.598	0.403	0.038	0.608	0.172	-0.590	0.726	0.850
FT	0.413	0.403	0.437		0.135	0.802	0.239	0.418	0.230	-0.263	-0.290	0.457	0.589
ABTS	0.136	0.615	0.550	0.135		0.375	-0.159	0.000	0.260	-0.061	-0.631	0.352	0.508
ST	0.288	0.664	0.598	0.802	0.375		-0.042	0.233	0.334	-0.149	-0.754	0.412	0.668
Pico 1	-0.217	0.114	0.403	0.239	-0.159	-0.042		0.062	0.389	0.209	0.351	0.664	0.428
Pico 2	0.359	0.168	0.038	0.418	0.000	0.233	0.062		-0.044	-0.379	0.119	0.085	0.182
Pico 3	0.220	0.440	0.608	0.230	0.260	0.334	0.389	-0.044		0.385	-0.327	0.397	0.422
Pico 4	-0.213	0.022	0.172	-0.263	-0.061	-0.149	0.209	-0.379	0.385		0.033	0.131	-0.023
Pico 5	-0.170	-0.724	-0.590	-0.290	-0.631	-0.754	0.351	0.119	-0.327	0.033		-0.251	-0.504
Pico 6	0.075	0.581	0.726	0.457	0.352	0.412	0.664	0.085	0.397	0.131	-0.251		0.873
Pico 7	0.177	0.787	0.850	0.589	0.508	0.668	0.428	0.182	0.422	-0.023	-0.504	0.873	

TABLA 8-6: Correlaciones de las variables de optimización de la extracción de semilla de aguacate var. Hass asistida con microondas.

	Ciclos de irradiación	Potencia	DPPH	FT	ABTS	ST	Pico 1	Pico 2	Pico 3	Pico 4	Pico 5	Pico 6	Pico 7	Pico 8
Ciclos de irradiación		0.000	0.296	0.444	0.389	0.458	0.575	0.349	0.340	0.536	0.388	0.005	0.527	0.519
Potencia	0.000		0.628	0.665	0.689	0.717	0.466	0.620	0.502	0.613	0.423	0.008	0.594	0.634
DPPH	0.296	0.628		0.783	0.805	0.797	0.466	0.682	0.418	0.669	0.597	-0.364	0.586	0.638
FT	0.444	0.665	0.783		0.966	0.950	0.662	0.720	0.553	0.854	0.750	-0.188	0.797	0.831
ABTS	0.389	0.689	0.805	0.966		0.898	0.544	0.658	0.417	0.756	0.670	-0.233	0.707	0.746
ST	0.458	0.717	0.797	0.950	0.898		0.774	0.742	0.654	0.904	0.695	-0.064	0.855	0.868
Pico 1	0.575	0.466	0.466	0.662	0.544	0.774		0.694	0.682	0.839	0.467	0.244	0.827	0.791
Pico 2	0.349	0.620	0.682	0.720	0.658	0.742	0.694		0.531	0.869	0.561	0.150	0.808	0.808
Pico 3	0.340	0.502	0.418	0.553	0.417	0.654	0.682	0.531		0.757	0.630	0.274	0.821	0.784
Pico 4	0.536	0.613	0.669	0.854	0.756	0.904	0.839	0.869	0.757		0.679	0.164	0.956	0.935
Pico 5	0.388	0.423	0.597	0.750	0.670	0.695	0.467	0.561	0.630	0.679		-0.342	0.592	0.585
Pico 6	0.005	0.008	-0.364	-0.188	-0.233	-0.064	0.244	0.150	0.274	0.164	-0.342		0.349	0.256
Pico 7	0.527	0.594	0.586	0.797	0.707	0.855	0.827	0.808	0.821	0.956	0.592	0.349		0.976
Pico 8	0.519	0.634	0.638	0.831	0.746	0.868	0.791	0.808	0.784	0.935	0.585	0.256	0.976	

ANEXO 6: Superficies de respuesta de las variables dependientes de la extracción de fracciones morfológicas de aguacate var. Hass asistida con microondas.

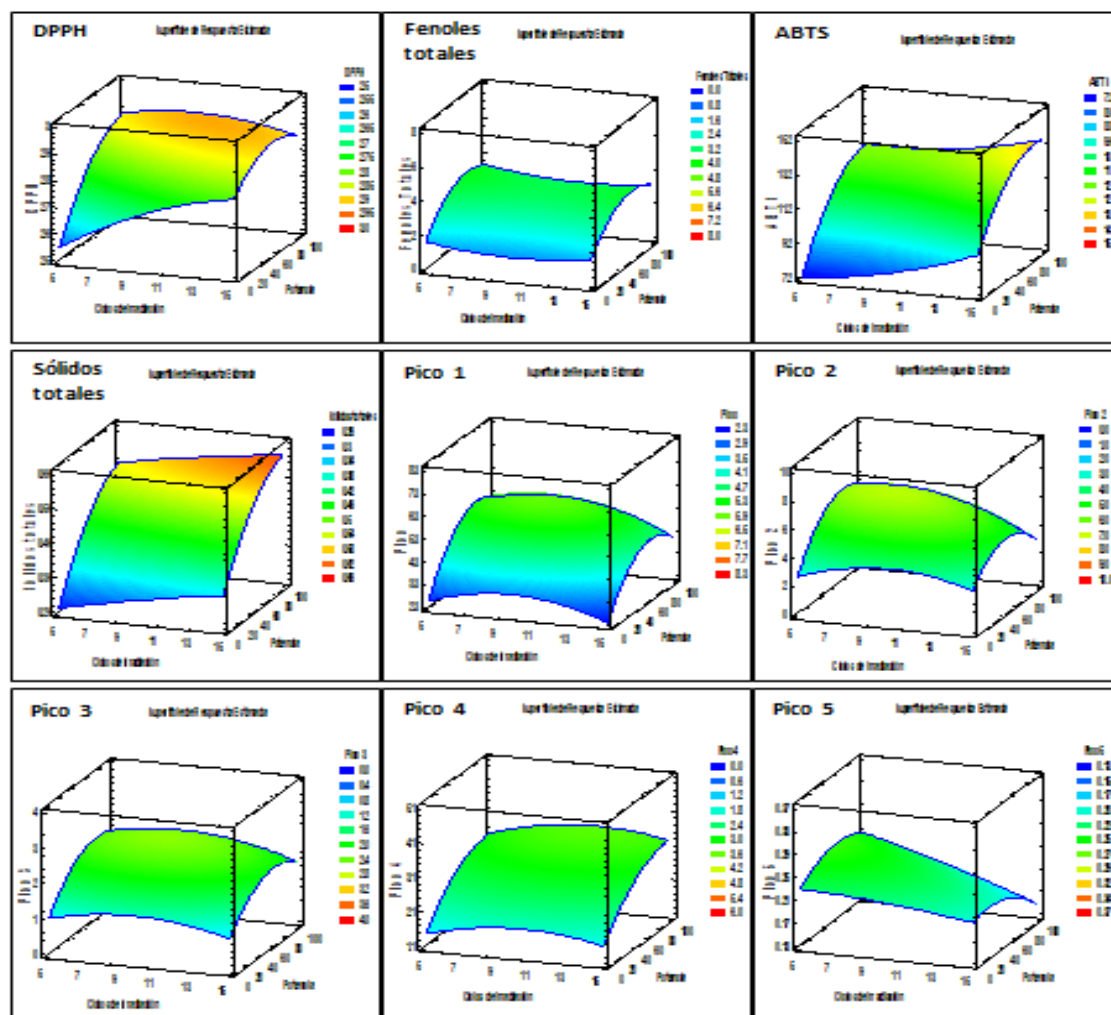


FIGURA 8-20 Efecto de las variables de extracción asistida con microondas de epicarpio de aguacate var. Hass sobre las variables de estudio.

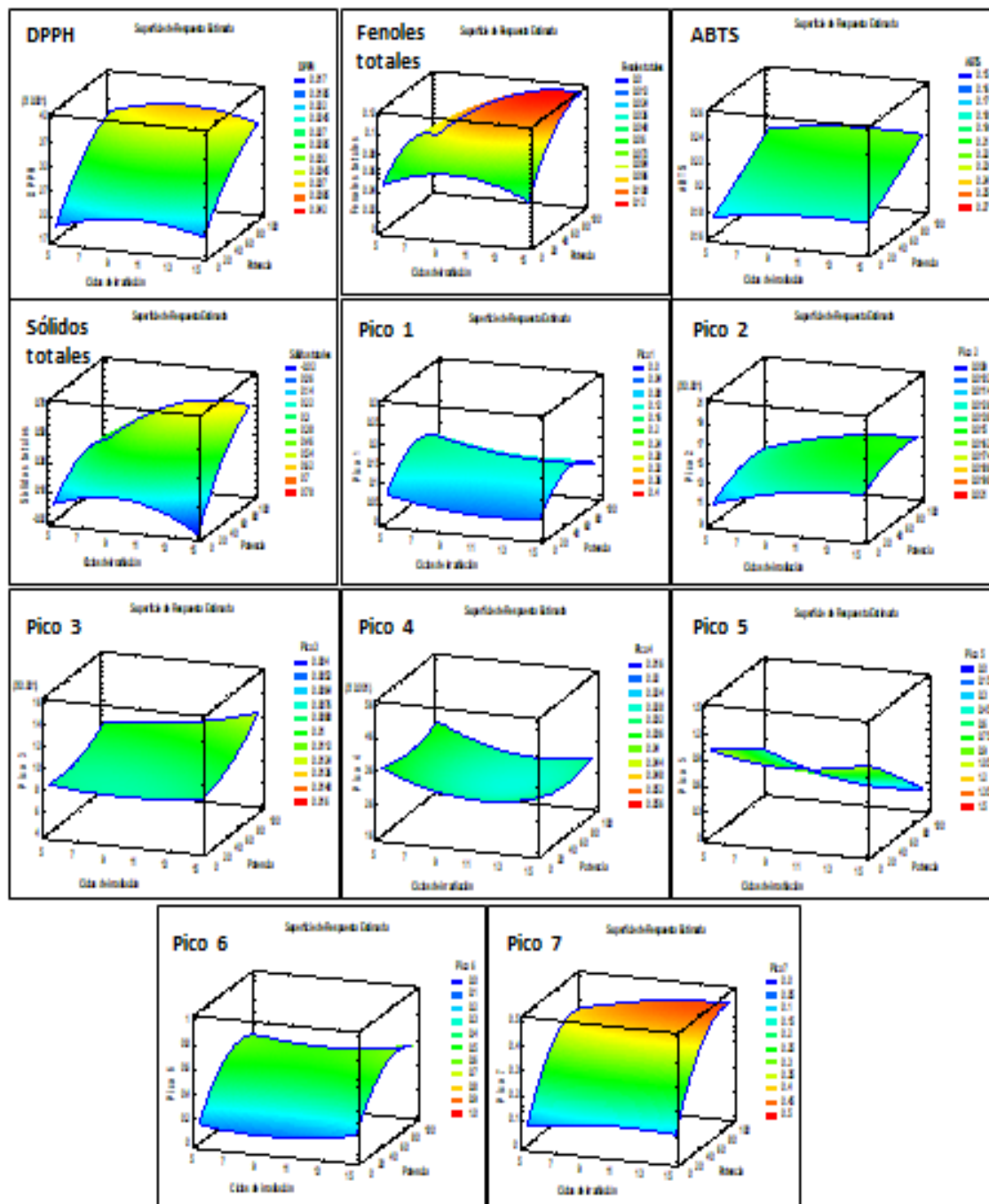


FIGURA 8-21 Efecto de las variables de extracción asistida con microondas de mesocarpio de aguacate var. Hass sobre las variables de estudio.

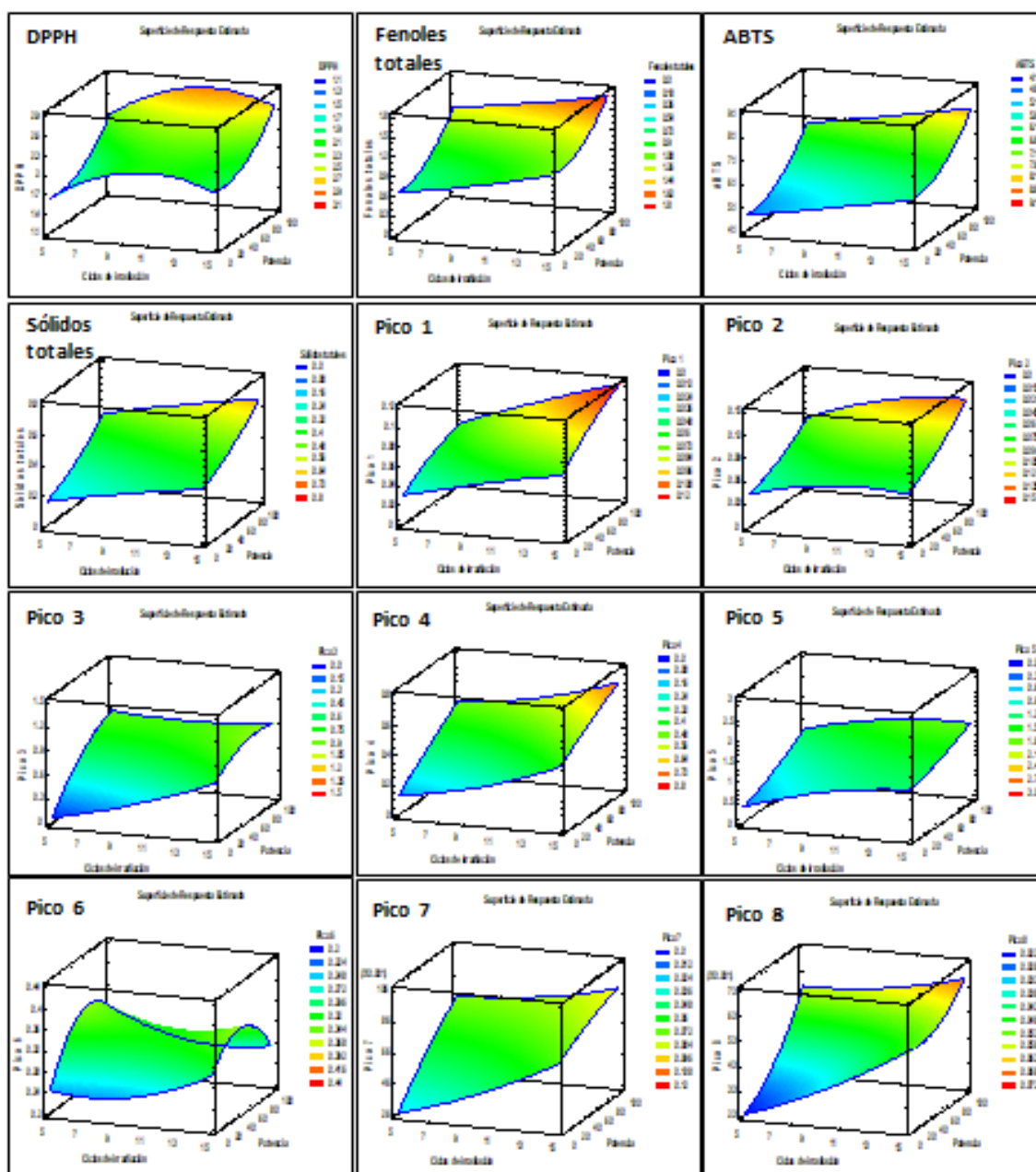


FIGURA 8-22 Efecto de las variables de extracción asistida con microondas de semilla de aguacate var. Hass sobre las variables de estudio.

Anexo 7: Compuestos tentativamente identificados en las muestras de aguacate

TABLA 8-7: Compuestos tentativamente identificados en las tres variedades de aguacates obtenidos con los tres métodos de extracción.

	Fórmula	Masa neutra	CAS ID	Tiempo retención (min)	Ion precursor (m/z)	Aducto	Fragmentos		
Flavonas									
Diosmetina	C ₁₆ H ₁₂ O ₆	300.06339	520-34-3	15.9580965	301.0714	(M+H)+	286.048	258.0528	
		300.06339		15.9648838	299.0562	(M-H)-	284.034	256.0393	
Hesperitina	C ₁₆ H ₁₄ O ₆	302.07904	520-33-2	14.2347326	303.0866	(M+H)+	177.0543	153.018	145.0276
Hesperedina	C ₂₈ H ₃₄ O ₁₅	610.18977	520-26-3	14.2774763	609.1459	(M-H)-	301.074	286.0527	164.0171
Tangeretina	C ₂₀ H ₂₀ O ₇	372.1209	481-53-8	16.3627472	373.1287	(M+H)+	358.1063	343.0832	329.1025
Sinensetin	C ₂₀ H ₂₀ O ₇	372.1209	2306-27-6	16.7219944	373.1288	(M+H)+	358.108	329.1039	312.1019
Rhoifolin	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₄	578.16356	17306-46-6	6.86967659	579.1706	(M+H)+	271.0602		
Naringina	C ₂₇ H ₃₂ O ₁₄	580.17921	10236-47-2	13.2519665	581.1883	(M+H)+	503.1285	459.143	415.1485
		580.17921	10236-47-2	13.3169231	579.1714	(M-H)-	227.0482		
Neohesperidina	C ₂₈ H ₃₄ O ₁₅	610.18977	13241-33-3	14.2325392	611.1979	(M+H)+	413.1228	303.0861	129.0537
Rutina	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	610.15339	153-18-4	11.5675497	609.1459	(M+H)+	465.1041	303.0518	129.0576
		610.15339	153-18-4	11.5150433	611.1615	(M-H)-	300.0298	271.0259	178.9983
Apigenina 7-O-glucósido	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	432.10565	578-74-5	6.89150047	433.1136	(M+H)+	271.0631		
Genistina	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	432.10565	529-59-9	6.90274715	433.1131	(M+H)+	271.059	243.0656	153.0173
Flavonoles									
Fisetina	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	286.04774	528-48-3	6.79079676	287.0559	(M+H)+	241.0483	213.0529	137.0238
Epicatequina	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	290.07904	490-46-0	9.90142536	291.087	(M+H)+	207.0662	139.0392	123.0443
Herbacetina	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	302.04265		10.7088957	303.0508	(M+H)+	257.04147	169.014	121.0297
Quercetina	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	302.04265	117-39-5	15.4786777	301.035	(M-H)-	229.0477	151.0023	121.0276
				10.6716242	303.0508	(M+H)+	229.0469	153.0168	68.9966
Nobiletina	C ₂₁ H ₂₂ O ₈	402.13147	478-01-3	17.0210228	403.1393	(M+H)+	388.1139	373.0905	342.1079
Kaempferol 7-O-glucósido	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	448.10056	16290-07-6	6.78651333	449.1082	(M-H)-	285.04	284.0321	257.0455
				14.7574263	447.093	(M+H)+	287.0535	153.0165	85.0287
	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	448.10056	480-10-4	14.0938568	449.1081	(M+H)+	287.0545	97.0275	85.0284
Isoquercetina	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	464.09548		8.31586552	465.1037	(M+H)+	303.0477	127.0369	85.0288
Quercetin 3-galactósido	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	464.09548	482-36-0	11.2203693	465.103	(M+H)+	303.0493	229.0474	61.0272
				12.875165	463.0885	(M-H)-	300.028	271.027	255.0328
Procianidina B2	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₂	578.14243		8.99027538	579.1502	(M+H)+	409.0906	289.0726	127.0389

Ácidos fenólicos									
Ácido p-cumárico	C ₉ H ₈ O ₃	164.04734	501-98-4	8.74117088	165.0551	(M+H)+	147.0442	119.0491	91.0548
Ácido m-cumárico	C ₉ H ₈ O ₃	164.04734	588-30-7	8.73287487	165.0548	(M+H)+	147.0431	119.0486	91.0538
Ácido clorogénico	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	354.09508	327-97-9	8.85836124	355.103	(M+H)+	163.0392	145.029	135.0471
					353.0881	(M-H)-	191.0553	161.0233	85.0296
Ácido p-salicílico	C ₇ H ₆ O ₃	138.03169	99-96-7	4.67398548	137.0241	(M-H)-	93.0345	75.0233	
Ácido salicílico	C ₇ H ₆ O ₃	138.03169	69-72-7	4.69439268	137.024	(M-H)-	93.0349	65.04	
Teaflavina (TF)	C ₂₉ H ₂₄ O ₁₂	564.12678	4670.05.7	14.800106	563.1193	(M-H)-	407.0724	257.0434	167.0349
Aminoácidos									
Ácido 1-Aminociclopropa no-carboxílico	C ₄ H ₇ NO ₂	101.04768	22059-21-8	3.20678067	102.0554	(M+H)+	39.0236	44.9975	56.0503
Ácido γ-Aminobutírico	C ₄ H ₉ NO ₂	103.06333	56-12-2	2.52324891	104.0711	(M+H)+	69.0341	86.0605	87.0443
L-serina	C ₃ H ₇ NO ₃	105.04259	56-45-1	3.03288937	106.0501	(M+H)+	42.0344	60.0453	88.0394
L-prolina	C ₅ H ₉ NO ₂	115.06333	147-85-3	3.45551324	116.0708	(M+H)+	43.0547	68.0497	70.0658
L-valina	C ₅ H ₁₁ NO ₂	117.07898	72-18-4	3.7052331	118.0864	(M+H)+	55.0547	56.0503	57.058
Ácido aminohidroxibutírico	C ₄ H ₉ NO ₃	119.05824	924-49-2	3.11244106	120.066	(M+H)+	56.0502	57.0341	74.0603
Ácido piroglutámico	C ₅ H ₇ NO ₃	129.04259	98-79-3	3.16793275	130.0867	(M+H)+	84.075	56.132	41.337
DL-ácido pipercolico	C ₆ H ₁₁ NO ₂	129.07898	535-75-1	3.95363379	130.0858	(M+H)+	58.0651	84.0808	112.076
L-leucina	C ₆ H ₁₃ NO ₂	131.09463	61-90-5	6.13655806	132.1019	(M+H)+	86.0967	44.0499	43.0546
L-isoleucina	C ₆ H ₁₃ NO ₂	131.09463	73-32-5	5.47215223	132.1019	(M+H)+	86.0968	69.0705	44.0496
L-asparagina	C ₄ H ₈ N ₂ O ₃	132.05349	70-47-3	3.05421877	133.0613	(M+H)+	74.024	70.0291	46.0286
L ácido aspártico	C ₄ H ₇ NO ₄	133.03751	56-84-8	3.27171397	134.0452	(M+H)+	74.024	70.0307	43.0184
				3.29240441	132.0304	(M-H)-	115.0031	88.0401	71.014
D ácido aspártico	C ₄ H ₇ NO ₄	133.03751	1783-96-6	3.27264476	134.0448	(M+H)+	88.0388	74.0237	43.0183
Ácido 1-Aminociclohexano Carboxílico	C ₇ H ₁₃ NO ₂	143.09463	2756-85-6	4.15613508	144.1027	(M+H)+	98.0963	81.0702	56.0498
L-glutamina	C ₅ H ₁₀ N ₂ O ₃	146.06914	56-85-9	3.09744596	147.0767	(M+H)+	130.0488	84.045	56.0503
L-lisina	C ₆ H ₁₄ N ₂ O ₂	146.10553	56-87-1	2.31024027	147.1129	(M+H)+	84.0811	74.0233	56.0504
L-glutamato	C ₅ H ₉ NO ₄	147.05316	56-86-0	3.20737982	148.0609	(M+H)+	102.0549	84.0447	56.0504
				3.21134043	146.046	(M-H)-	102.0559	74.0246	44.9995
L-metionina	C ₅ H ₁₁ NO ₂ S	149.05105	63-68-3	4.61561251	150.0588	(M+H)+	84.0455	61.0114	56.0501
L-metionina S-óxido	C ₅ H ₁₁ NO ₃ S	165.04596	3226-65-1	3.27736592	166.0534	(M+H)+	74.0253	58.0652	56.0505
DL-Metionina sulfóxido	C ₅ H ₁₁ NO ₃ S	165.04596	62697-73-8	3.2828629	166.0532	(M+H)+	102.0535	74.0228	56.0489
DL-Fenilalanina	C ₉ H ₁₁ NO ₂	165.07898	150-30-1	6.68297672	166.0869	(M+H)+	120.0802	103.0539	77.0392
L-Fenilalanina	C ₉ H ₁₁ NO ₂	165.07898	63-91-2	6.67106009	166.0869	(M+H)+	120.0804	103.0543	77.0392
L-tirosina	C ₉ H ₁₁ NO ₃	181.07389	60-18-4	6.38958597	182.0825	(M+H)+	136.0751	119.0491	91.0541

DL- triptófano	C ₁₁ H ₁₂ N ₂ O ₂	204.08988	54-12-6	6.91386271	205.0976	(M+H)+	143.0739	118.0657	91.0551
D- triptófano	C ₁₁ H ₁₂ N ₂ O ₂	204.08988	153-94-6	6.93121052	205.0972	(M+H)+	188.0707	146.06	118.0651
A-adenosil homocisteína	C ₁₄ H ₂₀ N ₆ O ₅ S	384.12159	979-92-0	4.75044727	385.1289	(M+H)+	136.0615	134.0266	88.0219
Ácidos carboxílicos									
Ácido quinaldico	C ₁₀ H ₇ NO ₂	173.04768	93-10-7	9.56103134	174.0553	(M+H)+	146.06	128.0501	91.0537
7, 8 Dihidro kavaina	C ₁₄ H ₁₆ O ₃	232.10994	587-63-3	11.1752787	233.1174	(M+H)+	159.0798	91.0546	77.0385
Ácido maleico	C ₄ H ₄ O ₄	116.01096	110-16-7	7.12356377	115.0038	(M-H)-	71.014	27.0237	
Acido succínico	C ₄ H ₆ O ₄	118.02661	110-15-6	6.70347309	117.0194	(M-H)-	73.0298	55.0191	
Ácido málico	C ₄ H ₆ O ₅	134.02152	6915-15-7	4.96775627	133.0146	(M-H)-	115.003	89.0246	71.0138
Ácido 3 hidroximetil glutárico	C ₆ H ₁₀ O ₅	162.05282	503-49-1	6.73292255	161.0457	(M-H)-	59.0134	57.035	41.0037
D - (+) - Ácido láctico 3-fenilo	C ₉ H ₁₀ O ₃	166.06299	7326-19-4	16.144907	165.0556	(M-H)-	119.0502	103.0553	72.9936
Ácido cítrico	C ₆ H ₈ O ₇	192.027	77-92-9	6.59743643	191.0199	(M-H)-	111.0084	87.0089	68.9977
Ácido quínico	C ₇ H ₁₂ O ₆	192.06339	77-95-2	4.0997901	191.056	(M-H)-	173.0442	127.0396	85.0298
Ácido galactónico	C ₆ H ₁₂ O ₇	196.0583	13382-27-9	3.6601665	195.0514	(M-H)-	129.0159	99.0097	75.0086
Ácido galactarico	C ₆ H ₁₀ O ₈	210.03757	526-99-8	4.02465916	209.03	(M-H)-	85.0283	71.0134	59.0144
Maltitol	C ₁₂ H ₂₄ O ₁₁	344.13186	585-88-6	3.46580625	343.1257	(M-H)-	101.0228	71.0142	59.0143
Vitaminas									
Colina	C ₅ H ₁₄ NO	104.10754	62-49-7	2.47357488	104.1072	M+	44.0499	45.0573	58.0661
Niacinamida	C ₆ H ₆ N ₂ O	122.04801	98-92-0	4.73707342	123.0551	(M+H)+	53.0389	78.0345	80.0505
Niacina (ácido nicotínico)	C ₆ H ₅ NO ₂	123.03203	59-67-6	3.76037169	124.0397	(M+H)+	53.0391	78.0345	80.05
Piridoxina	C ₈ H ₁₁ NO ₃	169.07389	65-23-6	3.4481349	170.0815	(M+H)+	134.0593	80.0498	66.0461
Ácido pantoténico	C ₉ H ₁₇ NO ₅	219.11067	137-08-6	6.90189886	220.1184	(M+H)+	102.0551	84.0447	72.0813
Azúcares									
D-manitol	C ₆ H ₁₄ O ₆	182.07904	69-65-8	3.97425294	183.0866	(M+H)+	121.0268	97.9691	69.0341
D-Glucosa 6-fosfato	C ₆ H ₁₃ O ₉ P	260.02972	56-73-5	5.52650785	261.0379	(M+H)+	109.0276	98.9839	71.0505
Sacarosa	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	342.11621	57-50-1	3.62077856	365.1055	(M-H)-	89.0239	59.0144	
				3.62291193	341.109	(M+Na)+	203.0522	185.0413	
D-(+)-Manosa	C ₆ H ₁₂ O ₆	180.06339	3458-28-4	3.23165298	179.0574	(M-H)-	71.0124	59.0133	
α-D-Glucosa	C ₆ H ₁₂ O ₆	180.06339	492-62-6	3.23074365	179.0562	(M-H)-	101.0225	71.0139	59.0141
D-Glucoheptosa	C ₇ H ₁₄ O ₇	210.07395	3146-50-7	3.40109563	209.0678	(M-H)-	71.0138	59.0142	57.0335
Glucosa 1-fosfato	C ₆ H ₁₃ O ₉ P	260.02972	59-56-3	5.57533264	259.025	(M-H)-	96.9687	78.9591	
Gentibiosa	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	342.11621	554-91-6	3.49731421	341.1104	(M-H)-	221.066	131.034	161.044
Maltosa	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	342.11621	69-79-4	3.49954057	341.1103	(M-H)-	221.069	101.0242	73.031
UDP-glucosa	C ₁₅ H ₂₄ N ₂ O ₁₇ P ₂	566.05502	133-89-1	5.4951005	565.0469	(M-H)-	384.9852	241.0115	96.9696
1-Kestosa	C ₁₈ H ₃₂ O ₁₆	504.16904	470-69-9	11.4417925	503.1762	(M-H)-	89.0244	71.0149	59.0143
Péptidos									

GluAla	C ₈ H ₁₄ N ₂ O ₅	218.09027		2.83935881	219.098	(M+H)+	102.054	84.0437	44.05
Pro leu	C ₁₁ H ₂₀ N ₂ O ₃	228.14739		3.56747699	229.1553	(M+H)+	70.0654	68.0488	43.055
	C ₁₁ H ₂₀ N ₂ O ₃	228.14739		3.56747699	229.1553	(M+H)+	86.0965	70.0653	
GluVal	C ₁₀ H ₁₈ N ₂ O ₅	246.12157		4.58753204	247.1291	(M+H)+	84.0449	72.081	55.0541
AlaThrGlu	C ₁₂ H ₂₁ N ₃ O ₇	319.13795		3.00422287	320.1457	(M+H)+	84.045	74.0605	56.0503
VallleGlu	C ₁₆ H ₂₉ N ₃ O ₆	359.20564		6.53483152	360.2146	(M+H)+	84.045	74.0605	56.0503
GluValGlu	C ₁₅ H ₂₅ N ₃ O ₈	375.16417		4.80103493	376.1716	(M+H)+	183.1139	130.0503	72.0813
ValProAsp	C ₁₄ H ₂₃ N ₃ O ₆	329.15869		6.95178795	330.1662	(M+H)+	72.0803	70.065	55.0544
Ácidos grasos									
Éster metílico del ácido 7-cis hexadecenoico	C ₁₇ H ₃₂ O ₂	268.24023	56875-67-3	15.0836601	269.2484	(M+H)+	121.101	81.0699	55.0544
Metiléster del ácido 9 (Z), 11 (E), 13 (E) octadecatrienoico	C ₁₉ H ₃₂ O ₂	292.24023	4175-47-7	15.9626799	293.2477	(M+H)+	95.0856	81.0702	67.0545
Metiléster del ácido eicosapentaenoico	C ₂₁ H ₃₂ O ₂	316.24023	2734-47-6	16.4758282	317.2476	(M+H)+	117.0696	91.04	67.0541
Fitoesfingosina	C ₁₈ H ₃₉ NO ₃	317.29299	554-62-1	14.8881922	318.3007	(M+H)+	282.279	197.226	60.0444
Éster metílico del ácido araquidónico	C ₂₁ H ₃₄ O ₂	318.25588	2566-89-4	16.1610737	319.2638	(M+H)+	93.0694	81.0699	67.055
Metiléster del ácido 5 (Z), 8 (Z), 11 (Z) Eicosatrienoico	C ₂₁ H ₃₆ O ₂	320.27153		17.135088	321.2793	(M+H)+	93.0697	81.0699	67.0543
Metilinolenato	C ₁₉ H ₃₂ O ₂	292.24023	301-00-8	16.0080032	293.2476	(M+H)+	95.0856	79.0544	67.0541
Compuestos orgánicos									
ε-Caprolactama	C ₆ H ₁₁ NO	113.08406	105-60-2	8.55875111	114.0919	(M+H)+	44.0142	69.071	79.0539
1-Feniletilamina	C ₈ H ₁₁ N	121.08915	98-84-0	6.55816841	122.0967	(M+H)+	79.0542	105.07	106.065
Ácido imidazol acético	C ₅ H ₆ N ₂ O ₂	126.04293	645-65-8	2.79026341	127.051	(M+H)+	54.0339	81.0446	
2,5-dihidroxibenzaldehído	C ₇ H ₆ O ₃	138.03169	1194-98-5	9.88915348	139.0399	(M+H)+	111.048	93.037	65.0428
Ácido acético 2-pirimidina	C ₆ H ₆ N ₂ O ₂	138.04293	66621-73-6	4.82828569	139.0501	(M+H)+	121.0405	93.0453	66.0347
Oxiquinolona	C ₉ H ₇ NO	145.05276	148-24-3	7.16642475	146.0607	(M+H)+	117.0592	101.0407	77.0408
4-formil indol	C ₉ H ₇ NO	145.05276	1074-86-8	7.17493677	146.06	(M+H)+	118.0641	117.0555	91.0534
5-L-glutamyl-L-alanina	C ₈ H ₁₄ N ₂ O ₅	218.09027	5875-41-2	2.83718777	219.0977	(M+H)+	90.0547	84.0443	44.0502
myo-Inositol	C ₆ H ₁₂ O ₆	180.06339	87-9-8	3.23616433	179.0556	(M-H)-	161.045	87.0078	44.999
Otros compuestos									
Pyrimidina-4-yl-Metanol	C ₅ H ₆ N ₂ O	110.04801	33581-98-5	2.69709897	111.0553	(M+H)+	39.0238	54.0347	81.0449

Betaina	C ₅ H ₁₂ NO ₂	118.0868	590-46-5	3.70664573	118.0864	M+	58.0666	59.0739	
β-fenilo-gamma-ácido amino butírico	C ₁₀ H ₁₃ NO ₂	179.09463	1078-21-3	3.92486215	180.1021	(M+H)+	145.0641	117.0698	91.0542
1-indanona	C ₉ H ₈ O	132.05752	83-33-0	15.5790377	133.0648	(M+H)+	89.0386	77.0386	51.0229
Ácido 2-piridilacético	C ₇ H ₇ NO ₂	137.04768	13115-43-0	3.50662017	138.0552	(M+H)+	93.0575	78.0341	65.0392
2-amino-1-feniletanol	C ₈ H ₁₁ NO	137.08406	7568-93-6	4.43175793	138.0918	(M+H)+	120.081	103.054	91.0542
Feniletanolamina	C ₈ H ₁₁ NO	137.08406	122-98-5	4.43622875	138.0915	(M+H)+	120.081	94.0651	45.0335
Dopamina	C ₈ H ₁₁ NO ₂	153.07898	51-61-6	3.46581602	154.0868	(M+H)+	91.0546	65.0394	51.0228
3, 4-dihidroxibenzaldehído	C ₇ H ₆ O ₃	138.03169	139-85-5	9.91071701	139.0392	(M+H)+	111.0426	93.0326	65.0381
Trigonelina	C ₇ H ₈ NO ₂	138.0555	535-83-1	3.51052856	138.0554	(M+H)+	111.0426	93.0326	65.0381
Salsolina	C ₁₁ H ₁₅ NO ₂	193.11028	89-31-6	6.49636555	194.182	(M+H)+	150.0516	135.0421	94.0636
Reserpina	C ₃₃ H ₄₀ N ₂ O ₉	608.27338	50-55-5	15.559145	609.2717	(M+H)+	577.2464		
Guanina	C ₅ H ₅ N ₅ O	151.04941	73-40-5	3.81999636	152.0568	(M+H)+	135.03	109.0514	93.0092
Adenosina	C ₁₀ H ₁₃ N ₅ O ₄	267.09675	58-61-7	4.96256924	268.1047	(M+H)+	136.0616	119.0338	57.0357
Adenosín difosfato (ADP)	C ₁₀ H ₁₅ N ₅ O ₁₀ P ₂	427.02942	58-64-0	6.7295475	426.0225	(M-H)-	158.9242	134.0466	78.959
L-arabitol	C ₅ H ₁₂ O ₅	152.06847	7643-75-6	4.70412016	153.0761	(M+H)+	87.0433	61.0293	57.0342
L-Iditol	C ₆ H ₁₄ O ₆	182.07904	488-45-9	3.41558146	181.0726	(M-H)-	71.0168	59.0159	55.0212
Perseitol	C ₇ H ₁₆ O ₇	212.0896	527-06-0	3.3704071	211.0839	(M-H)-	131.0337	101.0245	59.0145
Ácido 2-hidroxicinámico	C ₉ H ₈ O ₃	164.04734	583-17-5	6.3724761	165.0552	(M+H)+	103.054	91.0535	77.0382
				14.3812323	163.0399	(M-H)-	119.0508	93.0346	65.0393
Ácido abscísico (cis, trans)	C ₁₅ H ₂₀ O ₄	264.13616	21293-29-8	15.4818401	263.1282	(M-H)-	219.137	204.1134	153.0907
				7.01492071	265.144	(M+H)+	153.069	117.0679	91.0547
5'-citidina monofosfato o citidilato	C ₉ H ₁₄ N ₃ O ₈ P	323.05185	63-37-6	3.80235243	324.0599	(M+H)+	112.0502	97.029	
Monofosfato de uridina (UMP)	C ₉ H ₁₃ N ₂ O ₉ P	324.03587	58-97-9	7.43196297	325.0439	(M+H)+	113.034	97.028	69.0339
				7.435853	323.028	(M-H)-	211.0006	138.9798	96.9697
Ftalato de dioctilo	C ₂₄ H ₃₈ O ₄	390.27701	117-81-7	19.6321983	391.2856	(M+H)+	149.023	71.0855	57.0699
Salidroside	C ₁₄ H ₂₀ O ₇	300.1209	10338-51-9	7.28114796	323.1126	(M+Na)+	248.0959	162.0512	146.0591
				7.30753326	299.113	(M-H)-	137.0555	113.0261	59.0141
Phloridzin	C ₂₁ H ₂₄ O ₁₀	436.13695	60-81-1	13.8143444	435.1288	(M-H)-	273.0739	167.0328	123.0436
tert-butylp-Toluato	C ₁₂ H ₁₆ O ₂	192.11503	13756-42-8	15.3447399	193.1226	(M+H)+	91.0534	77.0399	65.0372
Scytalone	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	194.05791	49598-85-8	9.12098312	195.0659	(M+H)+	145.0274	117.0319	89.0378
Glicerofosfolina	C ₈ H ₂₁ NO ₆ P	258.11065	28319-77-9	3.33388066	258.1144	M+	124.9994	86.0971	71.0736
Parthenin	C ₁₅ H ₁₈ O ₄	262.12051	508-59-8	11.1655254	263.128	(M+H)+	129.0694	91.0541	79.0546
13-epi-12-oxo Ácido fitodienoico	C ₁₈ H ₂₈ O ₃	292.20385	71606-07-0	15.4882221	293.2113	(M+H)+	105.0696	91.0543	67.0548
9-OxoOTrE	C ₁₈ H ₂₈ O ₃	292.20385	125559-74-2	15.4943981	293.2116	(M+H)+	93.07	79.0542	55.0552
5'-Deoxy-5'-(methyl thio) adenosine	C ₁₁ H ₁₅ N ₅ O ₃ S	297.08956	2457-80-9	6.71852541	298.0977	(M+H)+	136.0617	97.0287	61.0115

5 (6) - éster metílico de EpETE	C ₂₁ H ₃₂ O ₃	332.23515	127716-49-8	15.6190996	333.2428	(M+H)+	131.0847	105.0694	55.0549
(±)5(6)-EETmethyl ester	C ₂₁ H ₃₄ O ₃	334.2508		15.7896385	335.2587	(M+H)+	131.0853	81.0703	67.0548
Arachidonoyl Thio-PC	C ₄₄ H ₈₃ NO ₆ PS	784.56787	146797-82-2	16.0642319	784.5848	M+	184.073		
Pirofosfato	H ₄ O ₇ P ₂	177.94323	2466.09.3	6.44164705	176.9356	(M-H)-	78.9599	62.9666	
Ácido 2-ceto-D-glucónico	C ₆ H ₁₀ O ₇	194.04265	669-90-9	3.82203913	193.0353	(M-H)-	85.0283	71.0134	59.0144
N-acetil-L-fenilalanina	C ₁₁ H ₁₃ NO ₃	207.08954	2018-61-3	14.0043144	206.0817	(M-H)-	164.0703	147.0439	91.055
6,7-Dimetil-9- (2-acetoxi etil) isoalloxazina	C ₁₆ H ₁₆ N ₄ O ₄	328.11716		7.49461365	327.1085	(M-H)-	59.0146	41.9992	
Glutanión	C ₁₀ H ₁₇ N ₃ O ₆ S	307.08381	70-18-8	4.95497608	308.0912	(M+H)+	116.0182	84.0464	58.9974
Glutatión, oxidado	C ₂₀ H ₃₂ N ₆ O ₁₂ S ₂	612.15196	27025-41-8	6.24002838	613.1673	(M+H)+	153.0664	112.0395	84.0423
Metopreno (S)	C ₁₉ H ₃₄ O ₃	310.2508	40596-69-8	15.9642143	311.2586	(M+H)+	95.0881	81.0722	67.0573
Alopregnanolona	C ₂₁ H ₃₄ O ₂	318.25588	516-54-1	16.1106548	319.2647	(M+H)+	283.2417	161.1326	119.0846
Oleoiletanolamina (OEA)	C ₂₀ H ₃₉ NO ₂	325.29808	111-58-0	15.6901598	326.3058	(M+H)+	93.07	62.0607	44.0504
1(3)-glyceryl-PGF2α	C ₂₃ H ₄₀ O ₇	428.2774	43042-79-1	15.6239204	451.2672	(M+Na)+	349.2376	133.1006	79.0546
alfa, beta-Trehalosa	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	342.11621	585-91-1	3.90048313	365.1052	(M+Na)+	203.0529	185.0418	
Tilorone	C ₂₅ H ₃₄ N ₂ O ₃	410.25694	27591-69-1	15.239089	411.2729	(M+H)+	100.1122	86.0968	58.0659
Ácido folínico	C ₂₀ H ₂₃ N ₇ O ₇	473.1659	58-05-9	7.11993504	474.1737	(M+H)+	327.1145		
BIX01294	C ₂₈ H ₃₈ N ₆ O ₂	490.30563		10.5896511	491.2995	(M+H)+	434.2549	172.1111	72.0814
ácido orótico	C ₅ H ₄ N ₂ O ₄	156.01711	65-86-1	7.93907976	155.0099	(M-H)-	111.0191	67.0295	
Ácido Shikímico	C ₇ H ₁₀ O ₅	174.05282	138-59-0	4.66737938	173.00459	(M-H)-	93.0344	83.0502	65.0397
sedoheptulosa-7-fosfato	C ₇ H ₁₅ O ₁₀ P	290.04028	2646-35-7	5.70678759	289.0326	(M-H)-	138.9792	96.969	78.9583
Acetato de noretindrona	C ₂₂ H ₂₈ O ₃	340.20385	51-98-9	15.1939335	339.1995	(M-H)-	183.0109	119.0475	79.9543
Glucitol-4-Gucopyanoside	C ₁₂ H ₂₄ O ₁₁	344.13186	535-94-4	3.61773157	343.1251	(M-H)-	101.0243	85.0292	59.0142
1-Kestosa	C ₁₈ H ₃₂ O ₁₆	504.16904	470-69-9	11.4417925	503.1762	(M-H)-	89.0244	71.0149	59.0143
1-Palmitoyl-2-linoleoyl PE	C ₃₉ H ₇₄ NO ₈ P	715.51521	26662-95-3	16.144968	714.5067	(M-H)-	89.0244	71.0149	59.0143

TABLA 8-8: Descripción de los compuestos identificados.

Nombre compuesto	Descripción
Flavonas	
Diosmetina	Este compuesto pertenece a la clase de compuestos orgánicos conocidos como flavonoides 4'-o-metilados. Estos son flavonoides con grupos metoxi-unidos al átomo C4 de la estructura del flavonoide. Farmacológicamente, se informa que diosmetina exhibe actividades anticancerígenas, antimicrobianas, antioxidantes, estrogénicas y antiinflamatorias. También actúa como un agonista del receptor TrkB débil.
Hesperitina	Hesperitina es un flavonoide reductor del colesterol que se encuentra en una serie de jugos cítricos. Parece reducir la masa del éster de colesterol e inhibir la secreción de apoB hasta en un 80%. Hesperitina puede tener acciones antioxidantes, antiinflamatorias, antialérgicas, hipolipidémicas, vasoprotectoras y anticancerígenas. Hesperitina es un biomarcador para el consumo de frutas cítricas.
Hesperedina	La Hesperedina es un subproducto abundante y barato del cultivo de cítricos y es el principal flavonoide en naranja dulce y limón.
Tangeretina	Es una flavona O-polimetoxilada que se encuentra en la mandarina y otros epicarpios de cítricos. La Tangeretina fortalece la pared celular y actúa como un mecanismo de defensa de la planta contra los patógenos causantes de enfermedades.
Sinensetin	Este compuesto pertenece a la clase de compuestos orgánicos conocidos como flavonoides 7-o-metilados. Estos son flavonoides con grupos metoxi unidos al átomo de C7 de la estructura del flavonoide. Sinensetin se encuentra en los cítricos. Sinensetin se encuentra en la epicarpio de naranja y otras fuentes vegetales.
Rhoifolin	Este compuesto pertenece a la clase de entidades químicas conocidas como flavonoides-7-o-glucósidos. Estos son compuestos fenólicos que contienen un resto flavonoide que está unido O-glicosídicamente a un resto de carbohidrato en la posición C7. Rhoifolin se encuentra en los cítricos. Rhoifolin está aislado de <i>Citrus aurantium</i> (naranja de Sevilla).
Naringina	La Naringina es un flavanona-7-O-glucósido entre la flavanona naringenina y el disacárido neohesperidosa. La naringenina flavonoide se produce naturalmente en los cítricos, especialmente en pomelo, donde la naringina es responsable del sabor amargo de la fruta.
Neohesperidina	La Neohesperidina es encontrada en naranja dulce.
Rutina	La rutina es un flavonoide conocido por tener una variedad de actividades biológicas que incluyen propiedades antialérgicas, antiinflamatorias, antiproliferativas y anticancerígenas. Una gran cantidad de flavonoides, en su mayoría O-glucósidos, son compuestos polifenólicos de origen natural que están presentes en la mayoría de las frutas y verduras.
Apigenina 7-O-glucósido	Una glicosiloxiflavona.
Genistina	Genistina se encuentra en frutas. Genistina está presente en los alimentos de soja. Potencial nutracéutico.
Flavonoles	
Fisetina	La Fisetina (7,3', 4'-flavon-3-ol) es un polifenol vegetal del grupo de flavonoides. Se puede encontrar en muchas plantas, donde sirve como agente colorante. También se encuentra en muchas frutas y verduras, como fresas, manzanas, caquis, cebollas y pepinos.
Epicatequina	La epicatequina es un flavonoide antioxidante, que se presenta especialmente en las plantas leñosas ya que ambas

	formas (+) - Catequina y (-) - epicatequina (cis) forman. La Catequina es un potente polifenol soluble en agua y antioxidante que se oxida fácilmente.
Quercetina	La Quercetina es un flavonoide ampliamente distribuido en muchas plantas y frutas, incluidas las uvas rojas, los cítricos, el tomate, el brócoli y otras verduras de hoja verde, y una serie de bayas, incluidas las frambuesas y los arándanos. La Quercetina misma (aglicona quercetina), a diferencia de los glucósidos de Quercetina, no es un componente dietético normal.
Nobiletina	Nobiletin se encuentra en los cítricos.
Kaempferol 7-O-glucósido	
Astragalin	Astragalin se encuentra en bebidas alcohólicas. Astragalin está presente en el vino tinto. Está aislado de muchas especies de plantas. La astralsina es un 3-O-glucósido del kaempferol. Astragalin es un compuesto químico. Se puede aislar de <i>Phytolacca americana</i> (la hierba carmín americana).
Isoquercetina	Isoquercitrin se encuentra en bebidas alcohólicas. La Isoquercetina se encuentra ampliamente en las plantas. Se ha demostrado que la Isoquercetina exhibe una función antiproliferativa.
Quercetin 3-galactósido	Quercetin 3-galactósido se encuentra en bebidas alcohólicas. La Quercetina 3-galactósido ocurre ampliamente en las plantas, p. en epicarpio de manzana e <i>Hypericum perforatum</i> (hierba de San Juan).
Procianidina B2	La Procianidina B2 se encuentra en las bebidas alcohólicas. La Procianidina B2 está presente en el vino tinto. Procianidina B2 es un flavanol natural con una potente actividad antioxidante. Estructuralmente, es un dímero de epicatequina. La capacidad de la Procianidina B2 para eliminar el radical hidroxilo y el anión superóxido supera a la de la epicatequina y la Procianidina B4. 1, 2 Al igual que otros flavonoides polifenólicos con actividad antioxidante, la Procianidina B2 tiene diversos efectos celulares y posibles propiedades anticáncer, pero aún no se han examinado exhaustivamente en modelos animales o ensayos clínicos.
Ácidos fenólicos	
Ácido <i>p</i>-cumárico	El ácido <i>p</i> -Cumárico se puede encontrar en una amplia variedad de plantas comestibles, como cacahuates, tomates, zanahorias y ajos. Es un sólido cristalino que es ligeramente soluble en agua, pero muy soluble en etanol y éter dietílico. El ácido <i>p</i> -Cumárico es un antioxidante y se cree que reduce el riesgo de cáncer de estómago al reducir la formación de nitrosaminas cancerígenas.
Ácido <i>m</i>-cúmarico	El ácido <i>m</i> -Cumárico es un metabolito de polifenol del ácido cafeico, formado por la microflora intestinal y la cantidad en biofluidos humanos depende de la dieta. El ácido <i>m</i> -Cumárico es transportado por el transportador de ácido monocarboxílico (MCT). La absorción mediada por MCT de compuestos fenólicos per se y sus metabolitos colónicos tendría un impacto significativo en la salud humana.
Ácido clorogénico	Es un ácido fenólico natural que es un inhibidor carcinogénico. El ácido clorogénico es un éster de ácido cafeico y ácido quínico. El ácido clorogénico es el principal compuesto polifenólico en el café, aislado de las hojas y frutos de las plantas dicotiledóneas. Este compuesto, conocido durante mucho tiempo como un antioxidante, también ralentiza la liberación de glucosa en el torrente sanguíneo después de una comida.
Ácido <i>p</i>-salicílico	Metabolito endógeno.
Ácido salicílico	El ácido salicílico es un hidroxiaácido beta que se produce como un compuesto natural en las plantas. Tiene actividad directa como agente antiinflamatorio y actúa como un agente antibacteriano tópico debido a su capacidad para promover la exfoliación. El ácido salicílico es un ácido carboxílico orgánico incoloro, cristalino. El ácido salicílico es tóxico si se ingiere en grandes cantidades, pero en pequeñas cantidades se utiliza como conservante de alimentos y antiséptico en la pasta de dientes.

Teaflavina (TF)	Las teaflavinas son polímeros derivados de catequinas naturales que se oxidan al secarse la hoja de la planta. Los flavonoides como las teaflavinas neutralizan las especies de radicales libres y aumentan la actividad de las enzimas desintoxicantes de fase II en el hígado.
Aminoácidos	
Ácido 1-Aminociclopropanocarboxílico	Este compuesto pertenece a la clase de entidades químicas conocidas como aminoácidos alfa. Estos son aminoácidos en los que el grupo amino está unido al átomo de carbono inmediatamente adyacente al grupo carboxilato (carbono alfa). El ácido 1-aminociclopropanocarboxílico se encuentra en las frutas. El ácido 1-Aminociclopropanocarboxílico se aísla del jugo de manzana y pera y de los arándanos.
Ácido γ-Aminobutírico	El ácido γ -aminobutírico (GABA) es un aminoácido no proteico que se encuentra presente ampliamente en microorganismos, plantas y animales. Es el principal neurotransmisor inhibitorio en el sistema nervioso central (SNC) de mamíferos.
L-serina	La serina es un aminoácido no esencial en los seres humanos (sintetizado por el cuerpo), la serina está presente y es funcionalmente importante en muchas proteínas.
L-prolina	L-prolina es un aminoácido no esencial que se sintetiza a partir de ácido glutámico. Es un componente esencial del colágeno y es importante para el funcionamiento adecuado de las articulaciones y los tendones. El colágeno es la principal proteína de soporte de la piel, los tendones, los huesos y el tejido conectivo y promueve su salud y escora. (NCI04)
L-valina	L-valina es un aminoácido esencial de cadena ramificada que tiene actividad estimulante. Valina se obtiene a partir de soja, queso, pescado, carnes y verduras. Los suplementos de valina se usan para el crecimiento muscular, la reparación de tejidos y la energía.
Ácido aminohidroxibutírico	
Ácido piroglutámico	El ácido piroglutámico es un derivado ciclado del ácido L-glutámico. Es un derivado de aminoácido poco común en el que el grupo amino libre del ácido glutámico se cicla para formar una lactama. Los niveles elevados de sangre pueden estar asociados con problemas del metabolismo de glutamina o glutatión. Este compuesto se encuentra en cantidades sustanciales en el tejido cerebral y otros tejidos en forma ligada, especialmente en la piel. También presente en tejidos vegetales.
Ácido DL-pipecólico	El ácido D-pipecólico es un metabolito humano normal que se encuentra en los biofluidos humanos.
L-leucina	L-leucina es un aminoácido esencial de cadena ramificada importante para la formación de hemoglobina. La leucina es uno de los nueve aminoácidos esenciales en los seres humanos (proporcionada por los alimentos), la leucina es importante para la síntesis de proteínas y muchas funciones metabólicas. La leucina está disponible en muchos alimentos y la deficiencia es rara. (NCI04)
L-isoleucina	Metabolito endógeno.
L-asparagina	La isoleucina es uno de los nueve aminoácidos esenciales en los seres humanos (presente en las proteínas de la dieta). La isoleucina tiene diversas funciones fisiológicas, como la cicatrización de heridas, la desintoxicación de desechos nitrogenados, la estimulación de la función inmune y la secreción de varias hormonas. La isoleucina se encuentra especialmente en carnes, pescado, queso, huevos y en la mayoría de las semillas y nueces. (NCI04)
L ácido aspártico	El ácido aspártico es un aminoácido no esencial en los seres humanos, el ácido aspártico tiene una carga negativa general y juega un papel importante en la síntesis de otros aminoácidos y en los ciclos de ácido cítrico y urea. El ácido aspártico también sirve como un neurotransmisor. (NCI04)
D ácido aspártico	El ácido D-aspártico es el isómero D del ácido aspártico. Desde su descubrimiento en invertebrados, se ha

	identificado D-aspartato (D-Asp) libre en una variedad de organismos, incluidos microorganismos, plantas y animales inferiores, mamíferos y humanos.
Ácido 1-Aminociclohexanocarboxílico	
L-glutamina	La glutamina (Gln) es uno de los 20 aminoácidos codificados por el código genético estándar. En los humanos, se considera un aminoácido no esencial. La glutamina se encuentra en alimentos con alto contenido de proteínas, como pescado, carne roja, frijoles y productos lácteos.
L-lisina	La lisina es uno de los nueve aminoácidos esenciales en los seres humanos necesarios para el crecimiento y la reparación de los tejidos. La lisina es suministrada por muchos alimentos, especialmente carnes rojas, pescado y productos lácteos.
L-glutamato	Metabolito endógeno. L-glutamato es un aminoácido no esencial que se produce naturalmente en la forma L. El ácido glutámico es el neurotransmisor excitador más común en el sistema nervioso central.
L-metionina	La metionina es uno de los nueve aminoácidos esenciales en los humanos (proporcionada por los alimentos), la metionina es necesaria para el crecimiento y la reparación de los tejidos. Un aminoácido que contiene azufre, la metionina mejora el tono y la flexibilidad de la piel, el cabello y fortalece las uñas.
L-metionina S-óxido	
DL-Metionina sulfóxido	El sulfóxido de metionina es un producto de oxidación de metionina con especies de oxígeno reactivo mediante un mecanismo dependiente de 2 electrones. Tales oxidantes se pueden generar a partir de neutrófilos activados; por lo tanto, el sulfóxido de metionina se puede considerar como un biomarcador de estrés oxidativo in vivo.
DL-Fenilalanina	
L-Fenilalanina	La fenilalanina es un aminoácido aromático esencial en los humanos (proporcionado por los alimentos), la fenilalanina desempeña un papel clave en la biosíntesis de otros aminoácidos y es importante en la estructura y función de muchas proteínas y enzimas. La fenilalanina está muy concentrada en alimentos ricos en proteínas, como la carne, el queso y el germen de trigo.
L-tirosina	La tirosina es un aminoácido esencial que pasa fácilmente la barrera hematoencefálica. La tirosina es un aminoácido importante en muchas proteínas, péptidos e incluso encefalinas, el analgésico natural del cuerpo.
DL- triptófano	(±) -Triptófano es un suplemento dietético, nutriente. El triptófano es uno de los 20 aminoácidos estándar, así como un aminoácido esencial en la dieta humana. Solo el estereoisómero L del triptófano se usa en proteínas estructurales o enzimáticas, pero el estereoisómero D se encuentra ocasionalmente en péptidos producidos naturalmente (por ejemplo, el péptido del veneno marino contryphan).
D- triptófano	Es uno de los 20 aminoácidos estándar, así como es esencial en la dieta humana. Está codificado en el código genético estándar como el codón UGG. El estereoisómero D se encuentra ocasionalmente en péptidos producidos naturalmente (por ejemplo, el péptido de veneno marino contryphan). La característica estructural distintiva del triptófano es que contiene un grupo funcional indol.
S-adenosil homocisteína	S-Adenosylhomocysteine. (AdoHcy) es el precursor inmediato de toda la homocisteína producida en el cuerpo.
Ácidos carboxílicos	
Ácido quinaldico	El ácido quinaldico es un producto del catabolismo del l-triptófano, a través del ácido cinurénico, que se encuentra en la orina humana. Este compuesto pertenece a la clase de compuestos orgánicos conocidos como ácidos carboxílicos de quinolina. Estas son quinolinas en las que el sistema de anillo de quinolina se sustituye por un grupo carboxilo en una o más posiciones.

7, 8 Dihidrokaína	Un compuesto que muestra actividad neuroprotectora y antinociceptiva. Analgésico no opiáceo y agente ansiolítico. Potencia la unión del ligando a GABAA. Muestra efectos antinociceptivos, neuroprotectores, anticonvulsivos, anestésicos y sedantes in vivo. Oralmente activo.
Ácido maleico	El ácido maleico es una sal orgánica o éster del ácido maleico que se podría conjugar con compuestos / fármacos de base libre para mejorar las propiedades fisicoquímicas, incluida la estabilidad, la solubilidad y la velocidad de disolución. El ácido maleico es un compuesto orgánico que es un ácido dicarboxílico (molécula con dos grupos carboxilo). Elaboración de fertilizantes y agroquímicos, tales como el ácido fumárico. El ácido maleico es una materia prima industrial para la producción de ácido glioxílico por ozonólisis.
Acido succínico	El ácido succínico es un ácido dicarboxílico. El anión, succinato, es un componente del ácido cítrico o ciclo de TCA y es capaz de donar electrones a la cadena de transferencia de electrones. El ácido succínico se ha identificado recientemente como un oncometabolito o endógeno, metabolismo causante de cáncer. Se pueden encontrar altos niveles de este ácido orgánico en tumores o biofluidos que rodean tumores.
Ácido málico	El ácido málico es un ácido dicarboxílico orgánico de sabor agrio que desempeña un papel en muchos alimentos agrios o ácidos. Se encuentra en muchos vegetales y frutas y también es producido de forma natural por el cuerpo humano. El ácido málico se ha utilizado en ensayos que estudian el tratamiento de la xerostomía, la depresión y la hipertensión.
Ácido 3 hidroximetil glutárico	El ácido 3-hidroximetilglutarico es un metabolito que se acumula en la orina de pacientes afectados por aciduria 3-hidroxil-3-metilglutárica, un raro error innato del metabolismo (OMIM 246450). Este compuesto pertenece a la clase de entidades químicas conocidas como ácidos grasos hidroxi.
D - (+) - Ácido láctico 3-fenilo	El ácido feniláctico es un producto del catabolismo de la fenilalanina.
Ácido cítrico	El ácido cítrico (citrato) es un ácido débil que se forma en el ciclo del ácido tricarboxílico o que puede introducirse con la dieta. El ácido cítrico se encuentra en los cítricos, la mayoría concentrados en limones y limas, donde puede representar hasta un 8% del peso seco de la fruta.
Ácido quínico	Más específicamente, el ácido quínico es un ácido cristalino obtenido de corteza de cinchona, granos de café, hojas de tabaco, hojas de zanahoria, manzanas, melocotones, peras, ciruelas, verduras, etc. El ácido quínico también puede prepararse sintéticamente por hidrólisis del ácido clorogénico. Este compuesto pertenece a la clase de compuestos orgánicos conocidos como ácidos y derivados quínicos.
Ácido galactónico	Metabolito endógeno. Este compuesto pertenece a la clase de entidades químicas conocidas como hidroxiácidos y derivados de cadena media.
Ácido galactarico	El ácido galactarico es el ácido de azúcar dicarboxílico resultante de la oxidación galactosa con ácido nítrico diluido.
Maltitol	El Maltitol es un alcohol de azúcar (poliol) utilizado como un sustituto del azúcar. Tiene un 90% de dulzor de azúcar y propiedades casi idénticas, excepto el pardeamiento.
Vitaminas	
Colina	Este compuesto pertenece a la clase de compuestos orgánicos conocidos como colinas. La colina ahora se considera una vitamina esencial. Mientras que los humanos pueden sintetizar pequeñas cantidades (convirtiendo la fosfatidiletanolamina en fosfatidilcolina), se debe consumir en la dieta para mantener la salud. La leche, los huevos, el hígado y los cacahuetes son especialmente ricos en colina. La mayoría de la colina se encuentra en los fosfolípidos, a saber, la fosfatidilcolina o la lecitina.
Niacinamida	La niacinamida o la vitamina B3 es un compuesto importante que funciona como un componente de la coenzima NAD. La niacinamida es útil en la artritis y la diabetes tipo I de inicio temprano.

Niacina (ácido nicotínico)	Este compuesto pertenece a la clase de compuestos orgánicos conocidos como ácidos piridincarboxílicos. El ácido nicotínico, también conocido como niacina o vitamina B3, es una vitamina soluble en agua cuyos derivados como NADH, NAD, NAD + y NADP desempeñan papeles esenciales en el metabolismo energético en la célula viva y en la reparación del ADN. Niacina es un reductor eficaz de los niveles altos de colesterol.
Piridoxina	Este compuesto pertenece a la clase de compuestos orgánicos conocidos como piridoxinas. Se encuentra en el germen de trigo, carne, huevos, pescado y verduras, legumbres, nueces, alimentos ricos en granos integrales, al igual que en los panes y cereales enriquecidos. La piridoxina puede ayudar a equilibrar los cambios hormonales en las mujeres y ayudar en el sistema inmune.
Ácido pantoténico	El ácido pantoténico, también llamado vitamina B5, es una vitamina soluble en agua necesaria para mantener la vida. Se encuentran en casi todos los alimentos, con grandes cantidades en cereales integrales, legumbres, huevos, carne y jalea real.
Azúcares	
D-manitol	El manitol es un diurético y ayuda diagnóstica renal relacionada con el sorbitol. El manitol es un alcohol natural que se encuentra en frutas y verduras y se usa como diurético osmótico.
D-Glucosa 6-fosfato	La D-Glucosa-6-fosfato se forma en las células cuando la glucosa es fosforilada por la hexoquinasa (o glucoquinasa) o por la conversión de la glucosa-1-fosfato por la fosfoglucomutasa, que es el primer paso de la síntesis de glucógeno.
Sacarosa	La sacarosa es un disacárido no reductor compuesto por glucosa y fructosa unidas a través de sus carbonos anoméricos. La sacarosa se encuentra dispersa en las semillas, hojas, frutos, flores y raíces de las plantas, donde funciona como un almacén de energía para el metabolismo y como una fuente de carbono para la biosíntesis.
D-(+)-Manosa	D-Manosa es un carbohidrato. Se ha demostrado que los oligosacáridos de tipo manosa tienen un papel importante en el control de la calidad de las proteínas.
α-D-Glucosa	Alpha-D-glucosa es una fuente primaria de energía para organismos vivos. Es natural y se encuentra en las frutas y otras partes de las plantas en su estado libre. Se usa terapéuticamente en el reemplazo de líquidos y nutrientes.
D-Glucoheptosa	
Glucosa 1-fosfato	Este compuesto pertenece a la clase de entidades químicas conocidas como fosfatos de monosacáridos. Estos son monosacáridos que comprenden un grupo fosfatado unido a la unidad de hidratos de carbono.
Gentibiosa	La Gentibiosa o genciobiosa es un disacárido compuesto por dos unidades de D-glucosa unidas a través de un enlace glicosídico β (1->6).
Maltosa	Este compuesto pertenece a la clase de entidades químicas conocidas como compuestos o-glicosílicos. Estos son glucósidos en los que un grupo de azúcar se une a través de un carbono a otro grupo a través de un enlace O-glicosídico. La maltosa, o azúcar de malta, es un disacárido primario en la dieta humana formado a partir de dos unidades de glucosa unidas con un enlace alfa (1-> 4). La maltosa se puede descomponer en dos moléculas de glucosa por hidrólisis en organismos vivos.
UDP-glucosa	La difosfato de uridina es un intermediario clave en el metabolismo de los carbohidratos. Sirve como un precursor del glucógeno, puede metabolizarse en UDP galactosa y ácido UDP glucurónico, que luego puede incorporarse a los polisacáridos como galactosa y ácido glucurónico. También sirve como un precursor de lipopolisacáridos de sacarosa y glicoestingolípidos. Este compuesto pertenece a la clase de entidades químicas conocidas como azúcares nucleótidos de pirimidina.
1-Kestosa	1-Kestose es un fructooligosacárido. Un oligosacárido es un polímero de sacárido que contiene un pequeño número (típicamente de tres a seis) de azúcares componentes, también conocidos como azúcares simples. Generalmente

	se encuentran unidos por O o N a cadenas laterales de aminoácidos compatibles en proteínas o a restos lipídicos.
Péptidos	
GluAla	
Pro leu	
GluVal	Glu-Val, o glutamil-valina, es un producto de degradación proteolítica de proteínas más grandes. Pertenece a la familia de aminoácidos y derivados N-acyl-alpha. Estos son compuestos que contienen un aminoácido alfa que porta un grupo acilo en su átomo de nitrógeno terminal. Se encuentra en la orina.
AlaThrGlu	
ValleGlu	
GluValGlu	
ValProAsp	Los péptidos son moléculas formadas por aminoácidos unidos por enlace peptídico. El número de aminoácidos puede oscilar entre dos y cien; más de cien aminoácidos se considera una proteína. Incluso, si el número de aminoácidos es menor que cien, pero el peso molecular es mayor que 5.000 Daltons, la molécula sería una proteína. Ejemplos de péptidos metabólicamente importantes son la insulina, el glucagón, la oxitocina o la vasopresina.
Ácidos grasos	
Éster metílico del ácido 7-cis hexadecenoico	Este compuesto pertenece a la clase de entidades químicas conocidas como ésteres metílicos de ácidos grasos.
Metiléster de ácido 9 (Z), 11 (E), 13 (E) octadecatrienoico	El ácido 9Z, 11E, 13E-octadecatrienoico (α -ESA) es un ácido graso poliinsaturado conjugado que se encuentra comúnmente en el aceite de semilla vegetal.
Metiléster del ácido eicosapentaenoico	El ácido eicosapentaenoico (EPA) es un ácido graso ω -3 que puede tener efectos beneficiosos sobre la fisiología vascular e inmune.
Fitoesfingosina	Este compuesto pertenece a la clase de entidades químicas conocidas como 1,3-aminoalcoholes. Estos son compuestos orgánicos que contienen una cadena alquílica con un grupo amina unida al átomo C1 y un grupo alcohol unido al átomo C3. La fitoesfingosina es un fosfolípido. Los fosfolípidos son una clase de lípidos y un componente principal de todas las membranas biológicas; los metabolitos esfingolípidos, como la esfingosina y la ceramida, son compuestos altamente bioactivos y están involucrados en diversos procesos celulares, que incluyen la interacción célula-célula, la proliferación celular, la diferenciación y la apoptosis.
Éster metílico del ácido araquidónico	El ácido araquidónico es el ácido graso esencial clave en el origen de la cascada del ácido araquidónico.
Metiléster del ácido 5 (Z), 8 (Z), 11 (Z) Eicosatrienoico	El éster metílico del ácido eicosatrienoico (éster metílico del ácido de Mead) se usa típicamente como un estándar para el análisis de ácidos grasos, cuando los ácidos grasos se han transesterificado en metilo ésteres antes del análisis.
Metilinolenato	Un éster metílico de ácido graso derivado del ácido α -linolénico.
Compuestos orgánicos	
ϵ-Caprolactama	Las caprolactamas son amidas cíclicas de ácido caproico. Epsilon-caprolactam es un compuesto de sabor a aminas, amargo y picante que se encuentra en los girasoles.

1-Feniletilamina	Metabolito endógeno. La 1-feniletilamina o alfa-feniletilamina es una amina. Los enantiómeros individuales de este compuesto básico son útiles para realizar la resolución quiral de compuestos ácidos formando sales diastereoméricas. Este compuesto pertenece a la clase de compuestos orgánicos conocidos como aralkilaminas.
Ácido imidazol acético	El ácido imidazoleacético es un metabolito producto del metabolismo de la histamina. Está presente en la orina normal y aumenta en pacientes con histidinemia. (PMID 6530403). Este compuesto pertenece a la clase de entidades químicas conocidas como ácidos y derivados imidazolilcarboxílicos.
2,5-dihidroxi-benzaldehído	El aldehído gentilizado es un sustrato de la enzima aldehído oxidasa 1 [EC: 1. 2. 3. 1] en la degradación de valina, leucina e isoleucina, metabolismo de la tirosina, metabolismo del triptófano, metabolismo de la vitamina B6 y metabolismo de nicotinamida y nicotinamida.
2- ácido pirimidinacético	Es un producto intermedio sintético útil para la síntesis farmacéutica.
Oxiquinolina	Sintético. La oxiquinolina es un fenol heterocíclico y un derivado de quinolina con propiedades antisépticas, desinfectantes y pesticidas. Se utiliza como un estabilizador para el peróxido de hidrógeno, donde a veces se agrega en productos cosméticos.
4-formilo indol	Un intermediario sintético
5-L-glutamyl-L-alanina	Este compuesto pertenece a la clase de entidades químicas conocidas como dipéptidos. Estos son compuestos orgánicos que contienen una secuencia de exactamente dos alfa-aminoácidos unidos por un enlace peptídico.
myo-Inositol	Este compuesto pertenece a la clase de compuestos orgánicos conocidos como ciclohexanoles. El inositol es un azúcar natural que se encuentra en los fosfolípidos de la membrana celular, las lipoproteínas del plasma y (como la forma de fosfato) en el núcleo con posibles propiedades quimiopreventivas.
Otros	
Pyrimidina- 4- yl- Metanol	Es un intermediario sintético útil para la síntesis farmacéutica.
Betaína	Este compuesto pertenece a la clase de compuestos orgánicos conocidos como aminoácidos alfa. La betaína también es ampliamente considerada como un antioxidante.
β-fenilo-gamma-ácido amino butírico	Es un derivado del GABA con un grupo fenilo en la posición beta. Fenibut se utiliza para aumentar la sociabilidad, la motivación, la atención, el rendimiento, para la hiperactividad, además de para eliminar la ansiedad y tratar el insomnio.
1-indanona	La indanona es parte de la biosíntesis de la hormona esteroidea y de las vías metabólicas del ácido araquidónico. Es un sustrato para: familia Aldo-ceto reductasa 1 miembro C1 y familia Aldo-ceto reductasa 1 miembro C3.
Ácido 2-piridilacético	El ácido 2-piridilacético es un metabolito de betahistina. Se prescribe comúnmente a pacientes con trastornos de equilibrio o para aliviar los síntomas de vértigo asociados con la enfermedad de Ménière. Este compuesto pertenece a la clase de entidades químicas conocidas como piridinas y derivados.
2-amino-1-feniletanol	Amino simple que se encuentra en el cerebro. Puede ser un modulador de funciones simpáticas. Sus derivados son agonistas y antagonistas adrenérgicos. También se usa en la industria química.
Feniletanolamina	Como un compuesto orgánico, la Feniletanolamina es una fenetilamina β-hidroxilada que también está relacionada estructuralmente con varios fármacos sintéticos en la clase de fenetilamina sustituida El miembro más simple de la clase de feniletanolaminas que es 2-aminoetanol que tiene un sustituyente fenilo en la posición 1.
Dopamina	Este compuesto pertenece a la clase de compuestos orgánicos conocidos como catecolaminas y derivados. La dopamina es un transmisor importante en el sistema extrapiramidal del cerebro, e importante en la regulación del movimiento. La dopamina es un miembro de la familia de las catecolaminas (neurotransmisores) en el cerebro, y es un precursor de la epinefrina (adrenalina) y la norepinefrina (noradrenalina).

3, 4-dihidroxibenzaldehído	Estos son compuestos aromáticos orgánicos que contienen un anillo de benceno que lleva un grupo aldehído y un grupo hidroxilo. El 3,4-dihidroxibenzaldehído, también conocido como aldehído protocatecúico, es un aldehído fenólico, un compuesto liberado de los tapones de corcho al vino.
Trigonelina	Este compuesto pertenece a la clase de entidades químicas conocidas como alcaloides y derivados. Estos son compuestos químicos naturales que contienen principalmente átomos de nitrógeno básicos. La Trigonelina es un producto del metabolismo de la niacina (vitamina B3) que se excreta en la orina. También se encuentra en el café, donde puede ayudar a prevenir la caries dental evitando que la bacteria <i>Streptococcus mutans</i> se adhiera a los dientes. La Trigonelina se produce en muchas otras plantas, incluidas las semillas de alholva, guisantes de jardín, semillas de cáñamo, avena y patatas.
Salsolina	Este compuesto pertenece a la clase de entidades químicas conocidas como tetrahidroisoquinolinas. Estos son derivados de isoquinolina tetrahidrogenada. Salsolina es un compuesto que se cristaliza a partir de una solución de alcohol, se funde a 221 °C, soluble en alcohol caliente y cloroformo; usado en medicina como agente antihipertensivo
Reserpina	Este compuesto pertenece a la clase de entidades químicas conocidas como alcaloides de la yohimbina. Estos son alcaloides que contienen el esqueleto pentacíclico yohimban. Un alcaloide que se encuentra en las raíces de <i>Rauwolfia serpentina</i> y <i>R. vomitoria</i> .
Guanina	La guanina es una de las cinco nucleobases principales que se encuentran en los ácidos nucleicos ADN y ARN. Este compuesto pertenece a la clase de entidades químicas conocidas como purinas y derivados de purinas. Estos son compuestos heterocíclicos aromáticos que contienen un resto purina, que está formado por un anillo de pirimidina fusionado a un anillo de imidazol.
	Este compuesto pertenece a la clase de compuestos orgánicos conocidos como nucleósidos de purina. Estos son compuestos que comprenden una base de purina unida a un resto ribosilo o desoxirribosilo. Los derivados de adenosina desempeñan muchas funciones biológicas importantes además de ser componentes de ADN y ARN.
Adenosín difosfato (ADP)	Metabolito endógeno. Este compuesto pertenece a la clase de entidades químicas conocidas como ribonucleósidos difosfato de purina. Estos son ribonucleótidos de purina con un grupo difosfato unido al resto de ribosa. El difosfato de adenosina, abreviado ADP, es un nucleótido. Es un éster de ácido pirofosfórico con el nucleótido adenina. El ADP consiste en el grupo pirofosfato, la pentosa azúcar ribosa y la nucleobase adenina.
L-arabitol	Este compuesto pertenece a la clase de entidades químicas conocidas como alcoholes de azúcar. Estas son formas hidrogenadas de carbohidratos en las que el grupo carbonilo (aldehído o cetona, azúcar reductor) se ha reducido a un grupo hidroxilo primario o secundario.
L-Iditol	Iditol es un alcohol de azúcar que se acumula en la deficiencia de galactoquinasa. Químicamente, Iditol es un alcohol y un azúcar, o un poliol. Este compuesto pertenece a la clase de entidades químicas conocidas como alcoholes de azúcar. Estas son formas hidrogenadas de carbohidratos en las que el grupo carbonilo (aldehído o cetona, azúcar reductor) se ha reducido a un grupo hidroxilo primario o secundario.
Perseitol	El Perseitol (D- Glicerol, D- Galacto heptitol), es un alcohol azúcar raro en la naturaleza, se aísla por primera vez a partir del fruto, semillas y hojas de <i>Persea americana</i> , de donde toma su nombre. PERSEITOL. El Perseitol (D- Glicerol, D- Galacto heptitol), es un alcohol azúcar raro en la naturaleza, se aísla por primera vez a partir del fruto, semillas y hojas de <i>Persea americana</i> , de donde toma su nombre. se encuentra en algunas plantas, en particular en la alfalfa (<i>Medicago sativa</i> L.), en el aguacate, en el higo y en la prímula.
Ácido 2-hidroxicinámico	

	Este compuesto pertenece a la clase de entidades químicas conocidas como ácidos hidroxicinámicos. Estos son compuestos que contienen un ácido cinámico donde el anillo bencénico está hidroxilado. Fenilpropanoides y policétidos. Los ácidos cumáricos son compuestos orgánicos que son derivados hidroxil del ácido cinámico.
Ácido abscísico (cis, trans)	
	El ácido abscísico se encuentra en el arándano americano. El ácido abscísico se usa para regular la maduración de la fruta. El ácido abscísico (ABA), también conocido como abscisina II y dormin, es una hormona vegetal. Funciona en muchos procesos de desarrollo de las plantas, incluida la dormancia de los brotes. El ácido abscísico (ABA) es una hormona vegetal isoprenoide. Este compuesto pertenece a la clase de compuestos orgánicos conocidos como ácidos abscísicos y derivados.
5'-citidina monofosfato o citidilato	Este compuesto pertenece a la clase de entidades químicas conocidas como ribonucleidos monofosfatos de pirimidina. El monofosfato de citidina, también conocido como ácido 5'-citidílico y CMP abreviado, es un nucleótido. Es un éster de ácido fosfórico con el nucleósido citidina
Monofosfato de uridina (UMP)	Metabolito endógeno.
	Este compuesto pertenece a la clase de entidades químicas conocidas como ribonucleidos monofosfatos de pirimidina. Es un éster de ácido fosfórico con el nucleósido uridina. La uridina está presente en muchos alimentos, principalmente en forma de ARN.
Ftalato de dioctilo	Dioctyl phthalate es un éster del ácido ftálico. Aparece como un líquido de color claro e inodoro y se utiliza como plastificante para muchas resinas y elastómeros. Es una sustancia artificial utilizada para mantener los plásticos suaves o más flexibles.
Salidroside	Salidroside (Rhodiolsida) es un glucósido de tirosol que se encuentra en la planta Rhodiola rosea. Se cree que es uno de los compuestos responsables de la acción antidepresiva y ansiolítico de esta planta, junto con rosavin
Phloridzin	Phlorizin se encuentra en la manzana. Phlorizin se aísla de las hojas de la manzana y la corteza. La clorina es un glucósido tóxico producido por algunas plantas. Pertenece al grupo de flavonoides. Es un inhibidor competitivo del transporte renal de glucosa.
	Es un intermediario sintético útil para síntesis farmacéutica.
Glicerofosfolina	Este compuesto pertenece a la clase de entidades químicas conocidas como glicerofosfolinas. Estos son lípidos que contienen un resto de glicerol que lleva una fosfolina en la posición 3. La glicerofosforilcolina (GPC) es un derivado de colina y una de las dos formas principales de almacenamiento de colina (junto con fosfolina) en el citosol.
13-epi-12-oxo Ácido fitodienoico	13- epi - 12- oxo El ácido fitodienoico (13- epi -12-oxo PDA) es un metabolito de la lipoxigenasa del ácido α - en las hojas de plantas verdes como el maíz. Los ácidos grasos poliinsaturados ω -3 y ω -6 en plantas son sustratos para lipoxigenasas de plantas. 12- oxo PDA es uno de los metabolitos finales mejor estudiados de esta vía enzimática.
	9- OxoOTrE es producido por la oxidación de 9- HpOTrE. 9- OxoOTrE exhibe actividad antimicrobiana contra microorganismos patógenos de plantas, incluidas bacterias y hongos.
5' metiltioadenosina	Metabolito endógeno. Este compuesto pertenece a la clase de entidades químicas conocidas como 5'-desoxi-5'-tionucleósidos. Estos son 5'-desoxirribonucleósidos en los que la ribosa está tio-sustituida en la posición 5 'por un grupo S-alquilo. La 5'-metiltioadenosina (MTA) es un nucleósido que contiene azufre presente de forma natural en todos los tejidos de mamíferos. Se produce a partir de S-adenosilmetionina principalmente a través de la ruta de biosíntesis de poliamina, donde se comporta como un potente producto inhibidor.
5 (6) - éster metílico de EpETE	5 (6) - El éster metílico de EpETE es un derivado de 5 (6) - EpETE que es lo suficientemente estable como para enviar y manipular rutinariamente. 5 (6) - El éster metílico de EpETE es un derivado químicamente menos reactivo

	de 5 (6) - EpETE. El ácido libre activo se puede generar a partir del éster metílico mediante hidrólisis básica cuidadosa.
(±) 5 (6) - éster metílico de EET	En las células neuroendocrinas, como la pituitaria anterior y el islote pancreático, (±) 5 (6) - EET se ha visto implicada en la movilización de Ca ²⁺ y la secreción de la hormona.
Arachidonoyl Thio-PC	Arachidonoyl Thio-PC es un sustrato para muchas fosfolipasas A 2s (PLA 2s).
Pirofosfato	En química, el anión, las sales y los ésteres del ácido pirofosfórico se llaman pirofosfatos. El anión se abrevia PPI y se forma por la hidrólisis de ATP en AMP en las células. Esta hidrólisis se llama pirofosforólisis. El anión pirofosfato tiene la estructura P ₂ O ₇ ⁴⁻ y es un anhídrido ácido de fosfato. Es inestable en solución acuosa y se hidroliza rápidamente en fosfato inorgánico. Este compuesto pertenece a la clase de entidades químicas conocidas como pirofosfatos no metálicos. Estos son compuestos inorgánicos no metálicos que contienen un pirofosfato como su oxoanión más grande.
Ácido 2-ceto-D-glucónico	Metabolito endógeno.
N-acetil-L-fenilalanina	Este compuesto pertenece a la clase de entidades químicas conocidas como fenilalanina y derivados. Estos son compuestos que contienen fenilalanina o un derivado de la misma que resulta de la reacción de fenilalanina en el grupo amino o el grupo carboxi, o del reemplazo de cualquier hidrógeno de glicina por un heteroátomo. La acetilfenilalanina es un metabolito anfipático peligroso de la fenilalanina.
6,7-Dimetil-9- (2-acetoxi etil) isoalloxazina	
Glutación	Este compuesto pertenece a la clase de entidades químicas conocidas como péptidos. Estos son compuestos que contienen una amida derivada de dos o más moléculas de ácido aminocarboxílico (iguales o diferentes) por formación de un enlace covalente desde el carbono carbonílico de uno al átomo de nitrógeno de otro. El glutatión es un compuesto sintetizado a partir de cisteína, quizás el miembro más importante del equipo de eliminación de desechos tóxicos del cuerpo. Al igual que la cisteína, el glutatión contiene el grupo crucial de tiol (-SH) que lo convierte en un antioxidante eficaz. Prácticamente no hay organismos vivos en este planeta: animal o planta cuyas células no contienen algo de glutatión.
Glutación, oxidado	Este compuesto pertenece a la clase de entidades químicas conocidas como oligopéptidos. Estos son compuestos orgánicos que contienen una secuencia de entre tres y diez alfa-aminoácidos unidos por enlaces peptídicos. El glutatión oxidado es un dímero de glutatión formado por un enlace disulfuro entre las cadenas laterales de sulfhidrilo de cisteína durante el proceso de oxidación. el glutatión participa en la síntesis de leucotrienos y es un cofactor de la enzima glutatión peroxidasa.
Metopreno (S)	El metopreno se considera un pesticida biológico porque, en lugar de controlar las plagas objetivo mediante la toxicidad directa, el metopreno interfiere con el ciclo de vida de los insectos y evita que alcance la madurez o la reproducción.
Alopregnanolona	Este compuesto pertenece a la clase de compuestos orgánicos conocidos como gluco / mineralocorticoides, progestoginas y derivados. Estos son esteroides con una estructura basada en un resto prostano hidroxilado. La alopregnanolona es un metabolito neuroactivo de la progesterona y un modulador similar a los barbitúricos de los receptores centrales de ácido gamma-aminobutírico que modifican un rango de comportamientos, incluida la respuesta al estrés. es un esteroide creado en el cuerpo cuando la progesterona, la hormona sexual femenina, se metaboliza.
Oleoiletanolamina (OEA)	La oleoil etanolamida (OEA) es un análogo de la AEA endocannabinoide que se encuentra en el tejido cerebral y en el chocolate. La oleoil etanolamina (OEA) es un agonista del receptor alfa activado por el proliferador de peroxisomas endógeno (PPAR -α). Es un lípido de etanolamida natural que regula la alimentación y el peso corporal en

	vertebrados que van desde ratones hasta pitones.
alfa, beta-Trehalosa	Una trehalosa en la que uno de los residuos de glucosa tiene una configuración α en el carbono anomérico, mientras que el otro tiene una configuración α .
Tilorona	Tilorone es un agente antiviral utilizado como su clorhidrato. Es el primer compuesto sintético reconocido de bajo peso molecular que es un inductor de interferón oralmente activo, y también se informa que tiene acciones antineoplásicas y antiinflamatorias. Tilorona es un inductor de interferón de molécula pequeña disponible por vía oral que se usa como agente antiviral.
Ácido folínico	El metabolito activo del ácido fólico. Leucovorin se usa principalmente como su sal de calcio como antídoto contra los antagonistas del ácido fólico que bloquean la conversión del ácido fólico en ácido folínico.
BIX-01294	BIX-01294, un derivado de diazepin-quinazolinamina, es un inhibidor de histona-lisina metiltransferasa (HMTasa) que modula el estado epigenético de la cromatina. BIX-01294 inhibe los niveles dependientes de G9aHMTasa de histona-3 lisina (9) metilación (H3K9me). Bix-01294 y el ácido valproico, un inhibidor de la histona deacetilasa (HDAC), pueden reemplazar el requerimiento de OCT4 ectópico (POU5F1) y cMyc respectivamente en las recetas de inducción de células madre pluripotentes (iPS).
Ácido orótico	Este compuesto pertenece a la clase de compuestos orgánicos conocidos como ácidos pirimidincarboxílicos. Estas son pirimidinas con una estructura que contiene un grupo carboxilo unido al anillo de pirimidina. El ácido orótico es un componente dietético menor. Las fuentes dietéticas más ricas son la leche de vaca y otros productos lácteos, así como los vegetales de raíz, como las zanahorias y las remolachas.
Ácido Shikímico	Este compuesto pertenece a la clase de compuestos orgánicos conocidos como ácidos shikímicos y derivados. Estos son ciclitos que contienen un ácido ciclohexanocarboxílico sustituido con tres grupos hidroxilo en las posiciones 3, 4 y 5. El ácido Shikimico, más comúnmente conocido como su forma aniónica shikimate, es un intermediario bioquímico importante en plantas y microorganismos.
Sedoheptulosa-7-fosfato	Sedoheptulose 7-phosphate es un intermediario de la vía del fosfato de Pentosa (PPP) que tiene dos funciones: la generación de NADPH para síntesis reductivas y respuestas de estrés oxidativo dentro de las células, y la formación de residuos de ribosa para la biosíntesis de nucleótidos y ácidos nucleicos.
Acetato de noretindrona	Las tabletas de Acetato de Noretindrona, USP, (17-hidroxi-19-nor-17 α -pregn-4-en-20-yn-3-ona acetato), una progestina sintética, oralmente activa, es el éster de ácido acético de la noretindrona. Es un polvo blanco, cremoso, inodoro y cristalino.
Glucitol-4-Gucopyanoside	Derivado del algodón.
1-Kestosa	Este compuesto pertenece a la clase de entidades químicas conocidas como oligosacáridos. Estos son carbohidratos formados por 3 a 10 unidades de monosacáridos unidos entre sí a través de enlaces glicosídicos. 1-Kestose es un fructooligosacárido. Un oligosacárido es un polímero de sacárido que contiene un pequeño número (típicamente de tres a seis) de azúcares componentes, también conocidos como azúcares simples.
1-Palmitoyl-2-linoleoyl PE	Las fosfatidiletanolaminas son componentes importantes de las membranas celulares y las vías bioquímicas de la síntesis de ácidos grasos. 1- Palmitoyl- 2- linoleoyl PE (PLPE) es una de las muchas fosfatidiletanolaminas que pueden estar presentes en las membranas celulares. Se ha utilizado en estudios que implican la biosíntesis de la anandamida a través de la fosfolipasa A 2 (PLA 2) y las vías de lisoPLD. PLPE también se puede usar como sustrato específico para evaluar la actividad de sPLA 2 - IIA en presencia de otros fosfolípidos.