

**UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ DE ELCHE**  
**ESCUELA POLITÉCNICA SUPERIOR DE ORIHUELA**  
**Master Universitario en Ingeniería Agronómica**



**“Desarrollo y caracterización de la harina de  
piel de aguacate (*Persea americana*, L.) como  
ingrediente funcional en la industria  
alimentaria.”**

**TRABAJO FIN DE MASTER**

**Septiembre – 2017**

AUTOR: Endika Fernández Milán

TUTOR/ES: Estefanía Valero Cases  
María José Frutos Fernández



## RESUMEN

El objetivo del presente trabajo consistió en caracterizar las propiedades funcionales y fisicoquímicas de la harina de la piel del fruto del aguacate (*Persea Americana L.*) en distintos estados de maduración (Verde, Premadurado, Maduro) y elaborada mediante dos métodos de deshidratación: con estufa (24 h 50°C) y mediante liofilización. Se midieron el pH, color, contenido en sólidos solubles, actividad de agua y capacidad de retención de agua y aceite. Se analizó el contenido en polifenoles totales, la cantidad de clorofila y se determinó la capacidad antioxidante utilizando tres métodos distintos: ABTS, FRAP y DPPH. Las harinas de piel de aguacate elaboradas con ambos métodos de deshidratación presentaron contenidos elevados de polifenoles y clorofila, así como una alta capacidad antioxidante que fueron mayores cuando la deshidratación se hizo mediante liofilización. Las capacidades absorción de agua y de aceite, fueron altas, del orden de dos veces su peso. La harina de piel de aguacate presenta por tanto un gran potencial como ingrediente para el desarrollo de alimentos funcionales, contribuyendo a la revalorización de un subproducto de la industria y evitando un problema medioambiental.

**Palabras clave:** Compuestos funcionales, capacidad antioxidante, subproducto, secado, liofilizado

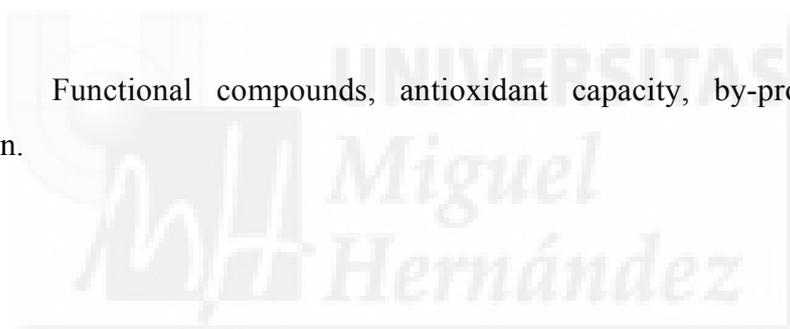
## **ABSTRACT**

The aim of this work was the characterization of the physicochemical and functional properties of the flour obtained from the peel of the avocado fruit in different stages of ripening (Unripe, Prematured, Ripe). Two drying methods were used in order to obtain the flour: Air drying in an oven and freeze drying.

Different parameters were analyzed, namely pH, colour, soluble solids content, water activity and oil and water retention capacity. The total phenolics content and the chlorophyll content were measured and the antioxidant capacity was determined using three different methods: ABTS, FRAP and DPPH.

The samples showed an oil and water retention capacity of two times its weight, and showed levels of water activity that guarantees the microbiological stability of the flour. The results showed higher phenolic contents and antioxidant capacity when the dehydration was done by freeze drying.

**Keywords:** Functional compounds, antioxidant capacity, by-product, drying liophylization.



## AGRADECIMIENTOS

Este ha sido un largo camino que no podría haber llevado a cabo sin el apoyo y la ayuda de muchas personas. Quiero agradecer especialmente a mis padres, por tener el valor de llevarnos a vivir a otro continente, ser capaces de volver y conseguir no perder el norte en el trayecto. Por supuesto, a mi hermano, compadre y amigo, Iker, por haberte venido conmigo varias veces al final del mundo y por las que nos quedan. A la familia de Bilbo, tíos, tías, primos, prima, abuela... Aunque estamos a distancia os quiero mucho, ya lo sabéis A la familia Muñoz Echeverri, Santi, Nacho, Milena, Jeanette y Javier, por acogernos como hijos y hermanos donde quiera que nos crucemos. A Alicia, por haberme acompañado en la parte más bonita de esta experiencia. A los amigos de Gandía, gracias por seguir igual de auténticos después de tanto tiempo, nunca dejemos de disfrutar. A los compañeros del máster, ha sido un auténtico placer conocerlos, habéis hecho mi experiencia en Orihuela inolvidable, gracias. A Nereida, que me acompañó y me enseñó los secretos del laboratorio, gracias. A mis dos tutoras Estefanía y Maria Jose, gracias por vuestros consejos, vuestra paciencia y vuestra profesionalidad, sois muy buenas docentes, y no lo hubiera podido hacer sin vosotras, gracias por todo.

Por supuesto a Francis, no me olvido, este va por ti.



## **INDICE**

|  | Página |
|--|--------|
| 1. Introducción  | 11     |
| 1.1 El aguacate  | 11     |
| 1.1.1 Origen, Morfología y taxonomía                   | 11     |
| 1.1.2 Flores y frutos                                  | 12     |
| 1.1.3 Requerimientos climáticos                        | 13     |
| 1.1.4 Cultivares                                       | 13     |
| 1.1.5 Variedades                                       | 14     |
| 1.1.5.1 Subtropicales                                  | 14     |
| 1.1.5.2 Tropicales                                     | 16     |
| 1.2. Producción mundial de aguacate                    | 17     |
| 1.3 Producción nacional de aguacate                    | 18     |
| 1.4 Composición nutricional del fruto                  | 19     |
| 1.5 La maduración del aguacate                         | 20     |
| 1.6 Subproductos del procesado de aguacate             | 20     |
| <br>   |        |
| 2. Objetivo  | 22     |
| <br>   |        |
| 3. Materiales y métodos                                | 24     |
| 3.1 Diseño experimental                                | 25     |
| 3.2. Material vegetal                                  | 26     |
| 3.3 Proceso de deshidratación y obtención de la harina | 27     |
| 3.4 Análisis físico-químicos                           | 29     |
| 3.4.1 pH, °Brix y color                                | 29     |
| 3.4.2 Capacidad de retención de agua                   | 30     |
| 3.4.3 Capacidad de retención de aceite                 | 31     |
| 3.4.4 Clorofila  | 31     |
| 3.5 Realización de extractos                           | 32     |
| 3.6 Polifenoles totales                                | 32     |
| 3.7 Medidas de capacidad antioxidante                  | 33     |
| 3.7.1 Método DPPH                                      | 33     |
| 3.7.2 Método ABTS                                      | 33     |
| 3.7.3 Método FRAP                                      | 34     |
| 3.8 Análisis estadístico                               | 35     |

## INDICE

|   | Página |
|---|--------|
| 4. Resultados y discusión   | 36     |
| 4.1 Clorofila y polifenoles totales                                   | 37     |
| 4.2 Capacidad antioxidante  | 39     |
| 4.2.1 Método ABTS   | 39     |
| 4.2.2 Método FRAP   | 39     |
| 4.2.3 Método DPPH   | 40     |
| 4.3 pH y °Brix  | 41     |
| 4.4 Capacidad de retención de agua y capacidad de retención de aceite | 42     |
| 4.5 Actividad de agua   | 43     |
| 4.6 Color   | 44     |
| 5. Conclusiones   | 46     |
| 6. Bibliografía   | 48     |

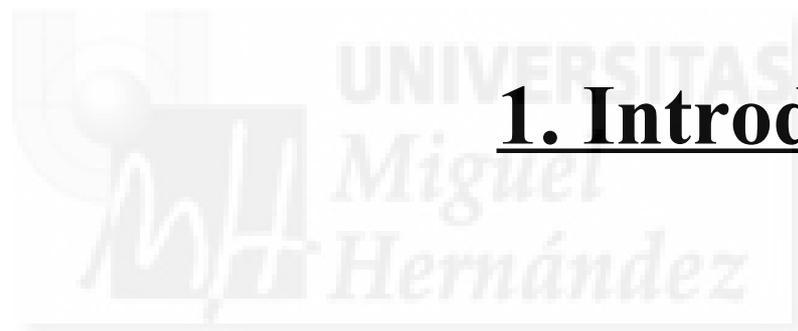


## **INDICE DE FIGURAS**

|  | Página |
|--|--------|
| Figura 1: Árbol del aguacate                             | 11     |
| Figura 2: Detalle de las flores del aguacate             | 12     |
| Figura 3: Frutos de aguacate de la Variedad Hass         | 14     |
| Figura 4: Frutos de aguacate de la variedad Pinkerton    | 15     |
| Figura 5: Frutos de aguacate de la variedad Lula         | 16     |
| Figura 6: Producción mundial de aguacate                 | 17     |
| Figura 7: Producción nacional de aguacate                | 18     |
| Figura 8: Diseño experimental                            | 25     |
| Figura 9: Aguacates madurados de forma natural           | 26     |
| Figura 10: Aguacates premadurados                        | 26     |
| Figura 11: Aguacates abiertos por la mitad               | 27     |
| Figura 12: Muestras de harina de piel de aguacate        | 28     |
| Figura 13: Equipo Aw sprint para medir actividad de agua | 29     |
| Figura 14: Colorímetro Minolta CR-300                    | 30     |

## **INDICE DE TABLAS**

|  | Página |
|--|--------|
| Tabla 1: Composición nutricional por 100g de pulpa   | 19     |
| Tabla 2: Contenido en clorofila y polifenoles totales (mg /g peso seco) en harina de piel de aguacate en distintos estados de maduración.                      | 38     |
| Tabla 3: Capacidades antioxidantes según los métodos ABTS, DPPH y FRAP ( $\mu\text{mol/g}$ ) en harina de piel de aguacate en distintos estados de maduración. | 40     |
| Tabla 4: Valores de pH y °Brix medidos en harina de piel de aguacate en distintos estados de maduración.   | 41     |
| Tabla 5: Capacidades de retención de agua y de aceite (g agua / g harina) en harina de piel de aguacate en distintos estados de maduración.                    | 42     |
| Tabla 6: Actividad de agua en harina de piel de aguacate en distintos estados de maduración.   | 43     |
| Tabla 7: Parámetros de color L, a, b, en harina de piel de aguacate en distintos estados de maduración.  | 45     |



# **1. Introducción**

## 1. Introducción

### 1.1 El aguacate

#### 1.1.1 Origen, Morfología y taxonomía

El aguacate (*Persea Americana*, L) pertenece a la familia de las Lauráceas, al subgénero *Persea*. Es nativo de América, su centro de origen se encuentra en el área VII de Vavilov (Sur de México y Centroamérica).

El desarrollo del árbol en su hábitat natural puede llegar a alcanzar entre 8 y 12 metros de altura. Su tronco y ramas son lisos, con la corteza de color verde claro en las ramas jóvenes y de color grisáceo en las viejas. Las hojas son perennes y de gran tamaño, de unos 30 cm de largo por 10 cm de ancho. Sus raíces son ligeramente duras y posee un sistema radical poco profundo pero muy ramificado (Téliz y Mora 2002).



Figura 1: Árbol del aguacate

### 1.1.2 Flores y frutos

Las flores del aguacate se localizan en inflorescencias ramificadas en forma de panícula. Son pubescentes, regulares, completas, perfectas y trímeras. Cuando están completamente abiertas, miden 1 cm de ancho y de 6 a 7 mm contando desde la base del ovario hasta el estigma. Son hermafroditas, presentando un comportamiento de sincronía dicogámica. Este consiste en que cuando una flor abre por primera vez, lo hace como funcionalmente femenina, es decir, su estigma está receptivo y las anteras no presentan dehiscencia. (Téliz y Mora 2002). Tras unas horas abiertas la flor se cierra, y al reabrir al siguiente día, lo hace como funcionalmente masculina, con el estigma seco y no receptivo, estando las anteras maduras y liberando polen. (Téliz y Mora 2002).



Figura 2: A la izquierda, detalle de la flor femenina. A la derecha detalle de la flor masculina.

Además, según el momento de apertura de las flores, se puede distinguir entre flores de árboles Tipo A y Tipo B.

Flores tipo A: Estas flores abren en fase femenina por la mañana y reabren en fase masculina durante la tarde del siguiente día. (Variedades Hass, Pinkerton, Reed).

Flores tipo B: Sus flores abren en fase femenina por la tarde y reabren en fase masculina durante la mañana del siguiente día. (Variedades Fuerte, Bacon, Shepard).

El árbol del aguacate produce miles de inflorescencias, cada una de las cuales puede poseer de 100 a 500 flores, por lo que el número total de flores por árbol puede ser de millones.

Sin embargo el total de flores que llegarán a desarrollar frutos, representa un porcentaje del 0,02% al 0,1%. (Téliz y Mora 2002)

Los frutos son drupas de tamaño variable, cuyo peso puede fluctuar dependiendo de la variedad desde unos 150 g hasta variedades que llegan a pesar 1 kg. Su forma varía desde esférica a ovalada. La piel puede ser lisa o rugosa, y su color puede ir desde el verde hasta el rojizo o violáceo oscuro, incluso negro según las variedades (Queralt 1987).

### 1.1.3 Requerimientos climáticos

El aguacate crece correctamente en latitudes subtropicales, el clima que favorece su desarrollo óptimo es templado durante todo el año con lluvias abundantes, de un mínimo de 800 mm anuales. Los suelos ligeros y con buen drenaje son los más recomendados (Téliz y Mora 2002). Las heladas afectan negativamente al aguacate, representando una de las mayores limitaciones para llevar el cultivo fuera de su centro de origen. Ya que la falta de temperatura durante el periodo de floración o el cuajado del fruto afectan negativamente al desarrollo de este. Durante este periodo, la humedad atmosférica debe encontrarse alrededor de un 70-80%, por el motivo de que valores más bajos disminuyen la capacidad de germinación del polen y activan la transpiración. Sin embargo, temperaturas superiores a 30 °C de manera prolongada también producen un efecto negativo en el desarrollo del fruto, acentuándose cuando van acompañadas por vientos fuertes y secos (Calabrese, 1992).

### 1.1.4 Cultivares

Tradicionalmente se han reconocido tres cultivares de aguacate: el mexicano, el guatemalteco y el antillano. Sin embargo, recientemente se ha reportado la existencia de un cuarto cultivar, endémico de Costa Rica, conocido como “aguacate de monte” y bautizado como cultivar *Costaricensis*. (Téliz y Mora, 2002).

Mexicano: Se caracteriza por un menor tamaño de frutos y un elevado contenido en aceite, (20%). Su resistencia al frío junto con su contenido en aceite, representan sus mayores ventajas. Es característico el olor anisado de sus hojas. (Duarte et al., 2016).

Guatemalteco: Su piel es más gruesa que la de los demás cultivares, lo que favorece su transporte, pero limita el reconocimiento de la madurez del fruto mediante el tacto, la semilla es pequeña y redonda. (Téliz y Mora, 2002).

Antillano: Como portainjerto resiste mejor la salinidad y se adapta a clima tropical, es el cultivar con menor lapso de flor a fruto. (Téliz y Mora, 2002).

Costaricensis: Se adapta a las condiciones subtropicales de Costa Rica, de semilla redonda y de piel con grosor mediano, flexible y suave. (Téliz y Mora, 2002).

### 1.1.5 Variedades

Según su adaptación climática, encontramos variedades tropicales y subtropicales. Las subtropicales son de cultivares Guatemalteco y Mexicano, mientras que en los tropicales encontramos variedades con combinaciones entre los cultivares Antillano y Guatemalteco.

#### 1.1.5.1 Subtropicales

Hass: De ascendencia principalmente Guatemalteca con algunos rasgos de Mexicano, es la principal variedad comercial a nivel mundial. Sus frutos tienen de 170 a 350 g de peso, un contenido de aceite del 23,7%, y piel rugosa de color púrpura oscuro al madurar. Los caracteres mexicanos le dan una mejor adaptación a climas templados, por lo que pueden ubicarse en altitudes variadas. (Téliz y Mora, 2002).



Figura 3: Frutos de aguacate de la variedad Hass

Fuerte: De genética Mexicana y Guatemalteca, proporciona frutos de peso entre 230 y 390 g, de forma ligeramente ovalada. Su piel es verde, de grosor mediano y prácticamente lisa, con un contenido de aceite del 18%. El árbol presenta alternancia en la producción, uno de los inconvenientes más importantes de la variedad. (Téliz y Mora, 2002).

Bacon: De ascendencia Mexicana y Guatemalteca, sus frutos pesan de 198 a 340 g, tienen piel lisa, delgada y de color verde oscuro. Su pulpa tiene buen sabor y contenido medio de aceite. Presenta buena tolerancia al frío, llegando a soportar hasta -4°C. (Téliz y Mora, 2002).

Pinkerton: Proveniente de un cruce entre Hass y Rincon, sus frutos rondan los 300 gramos de peso, con forma de pera y color verde oscuro. Su piel es de grosor medio-grueso, rugosa, con semilla de tamaño pequeño y la pulpa de color crema. (Téliz y Mora, 2002).



Figura 4: Frutos de aguacate de la variedad Pinkerton

### 1.1.5.2 Tropicales

Booth 8: De ascendencia Guatemalteca y Antillana, desarrolla frutos con peso de 397 a 510 g, su piel es de color verde mate, gruesa y rugosa, de semilla grande. Su contenido en aceite es del 6 al 8%. Se trata de árboles muy productores (Téliz y Mora, 2002).

Choquette: Tiene genética Guatemalteca y Antillana. Sus frutos llegan a alcanzar los 1,1 kg. La piel del fruto es prácticamente lisa de color verde oscuro con semilla de tamaño mediano. Su contenido en aceite es del 13% de muy buena calidad. El cultivar es resistente a las enfermedades comunes del fruto. (Téliz y Mora, 2002).

Lula: Originado en Florida, proveniente de una semilla de polinización libre del cultivar Taft. Su fruto es piriforme, de buena calidad. Forma árboles vigorosos con producciones regulares. (Téliz y Mora, 2002).



Figura 5: Fruto de aguacate de la variedad Lula.

## 1.2. Producción mundial de aguacate

El cultivo del aguacate ha tenido un crecimiento constante en los últimos años, durante los que ha ido ganando peso en los mercados internacionales, en el año 2014, la producción mundial de aguacate llegó a las 5.028.756 t lo que significó un crecimiento del 36% respecto del año 2004. Este constante crecimiento en la productividad es debido a múltiples factores entre los que destaca el aumento de la demanda de los consumidores por productos saludables, los avances en la tecnología postcosecha, y la disminución de barreras para la importación y exportación (Duarte et al., 2016). A la cabeza de esta creciente producción se sitúa México, con 1520695 t, lo que representa un 30% del total mundial del aguacate cultivado, después encontramos a República Dominicana, Perú, Indonesia y Colombia.

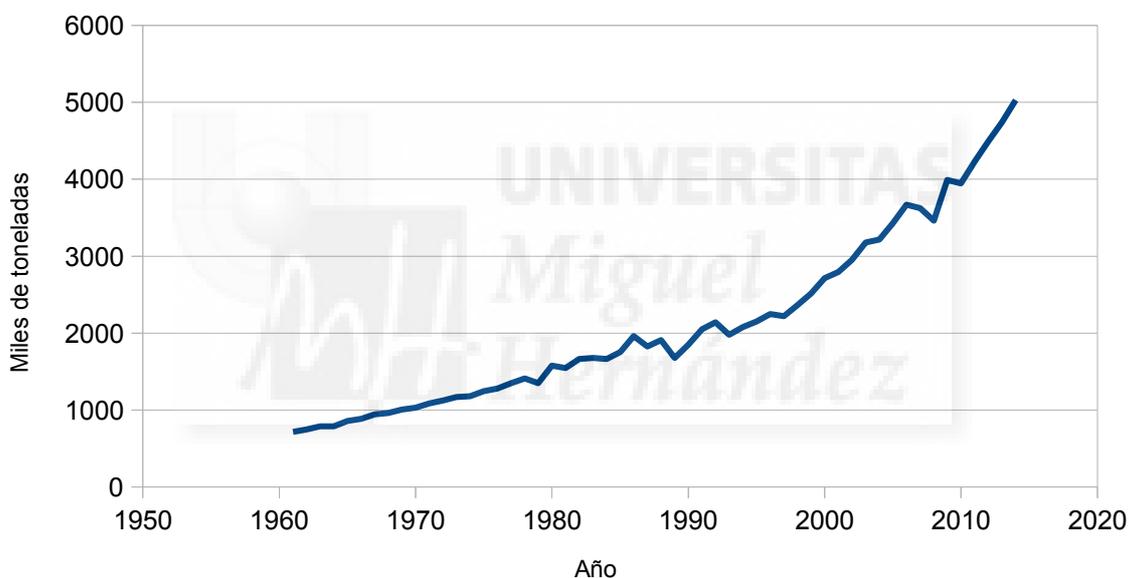


Figura 6: Producción mundial de aguacate. Fuente: FAOSTAT.

### 1.3 Producción nacional de aguacate

España ocupa el lugar 20 en la producción mundial de aguacate. Las primeras plantaciones de aguacate en nuestro país datan de los años 1970 en la provincia de Málaga (Díaz Robledo, 1997). Andalucía es la principal comunidad autónoma productora de aguacate en España, con una superficie de 13392 hectáreas cultivadas, su producción representa un 89,72% del total de la producción española. El 10% restante se reparte entre las islas Canarias, la Comunidad Valenciana y Cataluña (Mapama 2015). Sin embargo, el crecimiento del cultivo en los últimos años está en la provincia de Alicante, en la comarca de la Marina Baixa, el cultivo del aguacate ha llegado a suplantar a casi el 80% de la superficie que anteriormente estaba ocupada por cultivos de cítricos. (Interempresas 2017)

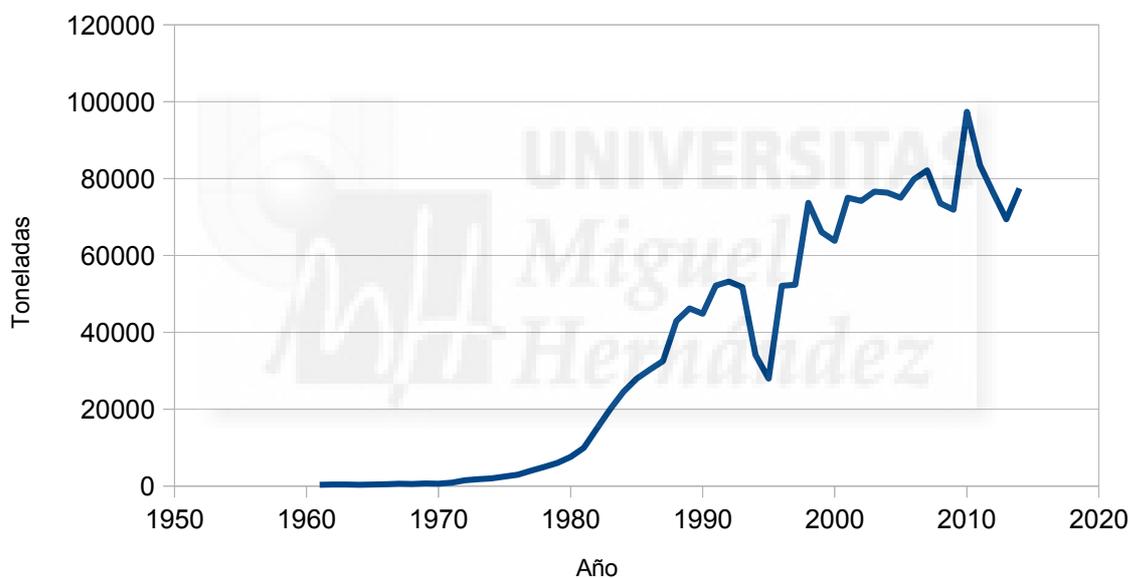


Figura 7: Producción nacional de aguacate. Fuente: FAOSTAT.

#### 1.4 Composición nutricional del fruto.

El aguacate es un fruto de elevada calidad nutricional, destaca por su elevado aporte lipídico, destacando su elevado contenido en ácidos grasos monoinsaturados y poliinsaturados. Es rico en vitaminas liposolubles, (A y E), ácido fólico y potasio (Duarte et al., 2016). Estas características nutricionales hacen que su consumo reduzca el riesgo de desarrollo de aterosclerosis y tenga efectos positivos en la disminución del colesterol (Téliz y Mora, 2002)

Tabla 1: Composición nutricional por 100 g de pulpa

|                 | <b>Componente</b>            | <b>Valor</b> |
|-----------------|------------------------------|--------------|
| Macronutrientes | Energía total                | 570/137      |
|                 | Grasa total                  | 12 g         |
|                 | AGPI                         | 1,04 g       |
|                 | AGS                          | 1,41 g       |
|                 | AGMI                         | 9,01g        |
|                 | Carbohidratos                | 6,3 g        |
|                 | Fibra                        | 0,4 g        |
|                 | Proteína                     | 1,5 g        |
|                 | Agua                         | 78,8 g       |
| Minerales       | Calcio                       | 16 mg        |
|                 | Hierro                       | 400,70 mg    |
|                 | Potasio                      | 400 mg       |
|                 | Magnesio                     | 41 mg        |
|                 | Sodio                        | 2 mg         |
|                 | Fósforo                      | 28 mg        |
|                 | Ioduro                       | 2 g          |
|                 | Zinc                         | 0,3 mg       |
| Vitaminas       | Vitamina A                   | 18 g         |
|                 | Vitamina D                   | 0 g          |
|                 | Vitamina E                   | 3,2 mg       |
|                 | Vitamina B-6                 | 0,42 mg      |
|                 | Vitamina C (ácido ascórbico) | 17 mg        |
|                 | Riboflavina                  | 0,12 mg      |

Fuente: (BEDCA 2017)

### 1.5 La maduración del aguacate

El fruto del aguacate no madura en el árbol, sino que inicia su proceso de maduración después de ser cosechado (Duarte et al., 2016; Lee et al., 1983). Los frutos necesitan pasar por un periodo de maduración para llegar al consumidor final (Arpaia et al., 2015). Por este motivo, las distribuidoras deben realizar tratamientos de maduración de los frutos con etileno. El tratamiento que se utiliza habitualmente en la industria consiste en madurar los frutos en cámara hermética con etileno a concentración variable, de 10 a 100  $\mu\text{L/L}$ . El tiempo requerido es de 8 a 36 h dependiendo de la temperatura de la cámara y de la madurez del fruto (Arpaia et al., 2015). Estos aguacates son lo que actualmente se comercializan como “Listos para el consumo” o “Maduración óptima”.

### 1.6 Subproductos del procesado de aguacate

Paralelamente al aumento de la producción de aguacate en fresco, la tecnología de procesado también se ha desarrollado, ofreciendo nuevos productos que se están consolidando en el mercado. Tal es el caso del aceite de aguacate o de la salsa de guacamole desarrollada por una gran superficie de nuestro país, la cual distribuyó el año 2011 alrededor de un millón de kilos de este producto. (Diario Sur 2012). La salsa de Guacamole es una salsa tradicional mexicana a base de pasta de pulpa de aguacate, cebolla, sal, zumo de limón y especias, la forma habitual de consumo es como aperitivo acompañada de tostadas de maíz o trigo. (E. Palou et al., 2000). El aceite de aguacate es apreciado y utilizado en la industria cosmética y farmacéutica. La fracción insaponificable del aceite de aguacate tiene propiedades regenerativas de la epidermis, es absorbido por la piel con facilidad, tiene un gran poder de absorción de perfumes y contiene altos niveles de vitamina E (Duarte et al., 2016). El aceite de aguacate virgen, extraído por presión en frío para uso alimentario es un producto reciente, se empezó a desarrollar en Nueva Zelanda a finales de los años 90 (Costagli et al., 2015). Entre sus cualidades destaca un alto punto de humo y un muy buen sabor, algunos autores han comparado el aceite de oliva con el del aguacate reportando mayores niveles de clorofila y vitamina E y un menor nivel de acidez libre en el segundo. (Olaeta et al., 2003). Este aumento en la disponibilidad de producto procesado en el mercado, se traduce en un aumento de la cantidad de frutos que se destinan a la industria alimentaria, y por lo tanto repercute en un aumento significativo en la cantidad de residuos de esta industria.

La pulpa que la industria de procesado aprovecha representa un 70% del peso total del fruto (Wang et al., 2010). El 30% restante corresponde a la piel y a la semilla, los cuales son descartados en la industria, convirtiéndose en residuos, lo que supone un problema medioambiental. En el año 2008, en México, el 5% del aguacate cultivado se destinó a procesado industrial, lo que se tradujo en la creación de 20000 toneladas de residuos (Álvarez et al., 2015). El manejo de este tipo de residuos junto con la contaminación medioambiental que estos producen, están fomentando el desarrollo de nuevos productos que aprovechen el potencial alimentario que los residuos contienen (Lima et al., 2014). , Al mismo tiempo, la creciente preocupación de la población por su salud y por la calidad de los alimentos que consumen, han aumentado la demanda de alimentos funcionales. Es debido a esta creciente demanda, que los subproductos de la industria alimentaria, por su riqueza en compuestos funcionales, se presentan como una opción de negocio real. (Ayala-Zavala J. et al., 2011). En su estudio, (Morais et al., 2015) documentan el potencial de los subproductos de la industria alimentaria, concluyendo que en el grupo de los frutos tropicales, las pieles y huesos que habitualmente se desechan en la industria de alimentos procesados, llegan a presentar mayor capacidad antioxidante que las pulpas. Debido a su composición, los subproductos de la industria de procesado de frutos tropicales, se posicionan como una potencial fuente de fibras alimentarias, y su incorporación como ingredientes para productos de alimentación funcional puede reportar beneficios económicos y medioambientales (Eskicioglu et al., 2015).

Por todo ello, se hace necesaria una caracterización fisicoquímica y funcional de los ingredientes que esos subproductos pueden ofrecer a medio plazo a la industria alimentaria.



## **2. Objetivo**

## **2. Objetivo**

El objetivo del presente trabajo consistió en caracterizar las propiedades funcionales y fisicoquímicas de la harina de la piel del fruto del aguacate (*Persea Americana L.*) en distintos estados de maduración (Verde, Premadurado, Maduro) y elaborada mediante dos métodos de deshidratación: con estufa (24 h 50°C) y mediante liofilización.





### **3. Materiales y métodos**

### 3. Material y métodos

#### 3.1 Diseño experimental

En la figura 8 se muestra el diseño experimental que se siguió para la realización de los ensayos.

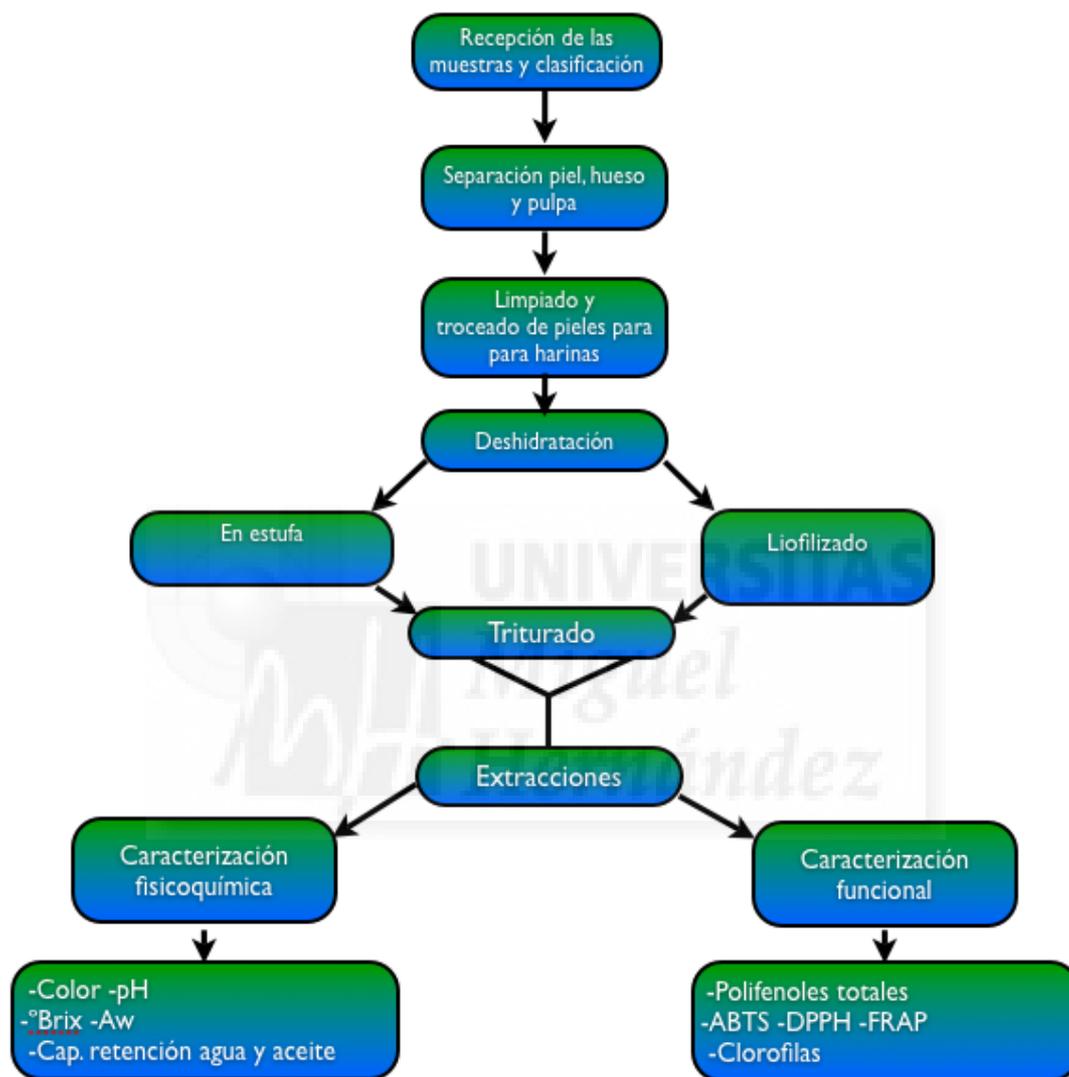


Figura 8: Diseño experimental

### 3.2. Material vegetal

Aguacates (*Persea Americana* L, Var. Hass) en diferentes estados de madurez (según su etiquetado) se compraron en el mercado local de Orihuela, procedentes de la empresa Reyes Gutiérrez S.L. de Málaga. Atendiendo al etiquetado de los frutos, 3 kg de aguacates se clasificaron como premaduros y listos para su consumo y 6 kg como aguacates verdes. La piel de los aguacates se utilizó para obtener diferentes tipos de harina según el estado de madurez de los frutos. Para obtener piel de aguacate maduro, 3 kg de los aguacates verdes (seleccionados de forma aleatoria), se mantuvieron a temperatura ambiente durante cuatro días. El resto de los frutos se procesaron el mismo día de su compra.



Figura 9: Aguacates madurados de forma natural.



Figura 10: Aguacates premadurados.

### 3.3 Proceso de deshidratación y obtención de la harina.

Las cáscaras de los aguacates verdes, premaduros y maduros se lavaron con agua fría potable. A continuación, cada aguacate se cortó por la mitad con un cuchillo. Después, se extrajo el hueso y se separó la pulpa de la piel con una cuchara.



Figura 11: Aguacates abiertos por la mitad.

Las pieles se trocearon en tiras de aproximadamente 3 cm, se clasificaron según su estado de madurez en bandejas de aluminio y se sometieron a diferentes métodos de deshidratación.

El resto de cáscaras (en diferentes estados de madurez), se congelaron a  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 24 h, Una parte de las cáscaras (en diferentes estados de madurez) fue deshidratada a  $50\text{ }^{\circ}\text{C}$  hasta alcanzar un peso constante (24 horas) en una estufa (Braun 20-Ponte), y posteriormente, se liofilizaron en un liofilizador Christ Alpha 2-4 (Braun Biotech, Melsungen, Alemania). Posteriormente, todas las muestras se trituraron con un molinillo (Moulinex, mod. A5052HF) y se tamizaron para obtener un tamaño de partícula menor de 0,5 mm.

Las diferentes muestras de harinas obtenidas: Harina de piel de aguacate premadurado (HP) deshidratado en estufa o liofilizado, harina de piel de aguacate verde (HV) deshidratado en estufa o liofilizado, harina de piel de aguacate maduro (HM) deshidratado en estufa o liofilizado. Se envasaron a vacío en bolsas Kraft de 200 x 300 mm de espesor  $66 \pm 10\% \mu\text{m}$ , se etiquetaron según su estado de madurez y se almacenaron a temperatura ambiente y resguardadas de la luz hasta sus posteriores análisis.

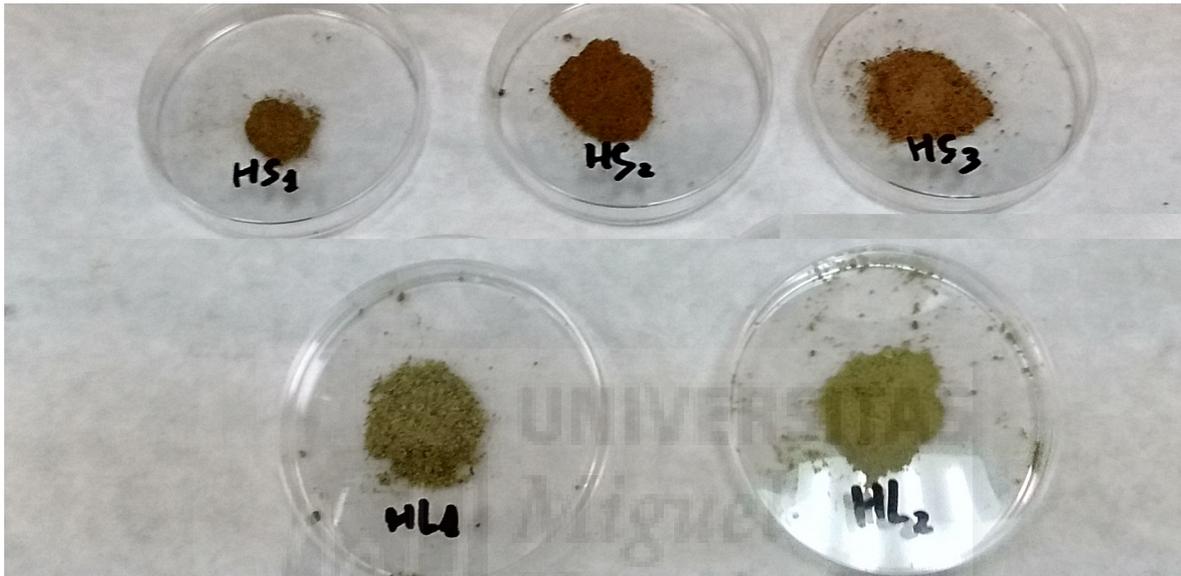


Figura 12: Diferentes muestras de harina de piel de aguacate

### 3.4 Análisis físico-químicos

#### 3.4.1 pH, °Brix y color

El pH se midió usando titrador automático (TitroMatic®, Crison mod. CRISON PH- MATIC 23), diluyendo las diferentes extracciones en agua destilada en una proporción 1:10 (p/v).

El contenido en sólidos solubles totales de las diferentes muestras, se determinó usando un refractómetro digital (Hanna® mod. HI 968012) previamente calibrado con agua destilada. Para hacer las mediciones se tomaron 2g de muestra, se diluyeron en 5 g de agua destilada y con esas diluciones, se tomaron las medidas en el refractómetro. Los resultados se expresaron como °Brix.

Para determinar la actividad de agua ( $A_w$ ), se utilizó un promedio de 2 gramos de cada muestra a temperatura ambiente en el equipo específico, Aw Sprint (Novasina). Todas las medidas se realizaron por triplicado.



Figura 13: Equipo Aw Sprint para medir actividad de agua.

Las determinaciones de color se realizaron con un colorímetro Minolta CR-300 Chroma Mether (Osaka, Japón) los resultados se expresaron usando la escala  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  (sistema CIELAB). En este sistema, el parámetro  $L^*$  indica luminosidad; Sus valores van desde  $L = 0$  (negro) a  $L = 100$  (blanco). El valor de  $a^*$ , oscila desde  $a = -60$  indicando verde y  $a = +60$  correspondiente al rojo, el valor  $a^*$  se representa en el eje horizontal. El valor  $b^*$ , enfrenta el azul y el amarillo, desde  $b = -60$  correspondiente al azul hasta  $b = +60$  indicando el amarillo, el valor  $b^*$  se representa en el eje vertical. Todas las medidas se realizaron por triplicado.



Figura 14: Colorímetro Minolta CR-300

### 3.4.2 Capacidad de retención de agua

La capacidad de retención de agua se determinó siguiendo el método descrito por Mallek Ayadi et al. (2016). Brevemente, se tomaron 0,25 g de cada muestra y se mezclaron con 10 mL de agua ultrapura. La mezcla se dejó durante 24 horas en reposo en oscuridad. A continuación, las muestras se centrifugaron a 3000 rpm durante 10 minutos a 4° C. Se retiró el sobrenadante y se midió su volumen. La capacidad de retención de agua se expresó como g de agua absorbida por g de muestra de seca.

### 3.4.3 Capacidad de retención de aceite

La capacidad de retención de aceite se determinó siguiendo el método descrito por Mallek Ayadi et al. (2016). Se mezclaron 0,25 g de cada muestra de harina con 10 mL de aceite de girasol, y se dejaron durante 24 horas en reposo en oscuridad. A continuación, se centrifugó a 3000 rpm durante 10 minutos a 4° C. Se retiró el sobrenadante y se midió su volumen. La capacidad de retención de como g de aceite absorbido por g de muestra seca.

### 3.4.4 Clorofila

Para la determinación de la cantidad de clorofila se siguió el método propuesto por Cox. *et al.*, (2004) con algunas modificaciones. Se prepararon extracciones que consistieron en 0,5 g de muestra diluida en 5 ml de acetona al 80%. La mezcla se centrifugó a 5000 rpm a 4°C durante 5 minutos, asado ese tiempo, se extrajeron los sobrenadantes, los cuales se filtraron con lana de vidrio en matraces aforados, llevándolos a 25 ml añadiendo acetona al 80%.

Se midió la absorbancia de la dilución obtenida, a 663 y 645 nm en un espectrofotómetro UV–Vis spectronic. Para la determinación de la concentración de cloro fila se utilizó la siguiente ecuación:

$$\text{Clorofila total (mg/g)} = \frac{20,2 * \text{OD a 645nm} + 8,02 * \text{OD a 663 nm} * V}{10 * W}$$

Donde, OD es la densidad óptica, V es el volumen del extracto (mL) y W es el peso de la muestra en (g) Los valores se expresaron como contenido mg de clorofila total /gramo de peso seco.

### 3.5 Realización de extractos

Para realizar la extracción para la determinación de polifenoles y capacidad antioxidante se tomaron 0,5 g de harina y se homogeneizaron con 9,5 g de extractante (metanol y agua 20:80, con un 0,1% de HCl) en un agitador a 500 rpm durante 5 minutos.

Los extractos obtenidos se centrifugaron (centrífuga mod. C30P CENTRIFUGE, B. Braun. Biotech) durante 10 minutos a 15000 rpm a una temperatura de 4 °C. Una vez centrifugados, los sobrenadantes fueron filtrados (0,45 µm, Millipore) y almacenados en viales ámbar de 1,5 mL (mod. PK/100), a -80 °C hasta su posterior análisis.

### 3.6 Polifenoles totales

El contenido de polifenoles totales se determinó mediante el método Folin- Ciocalteu, siguiendo las indicaciones descritas por Singleton, *et al.*, (1999). En un tubo de ensayo se introdujeron 2.5 mL de reactivo de Folin (1:10 reactivo de folin: H<sub>2</sub>O ultrapura) y una cantidad determinada de extracto de la muestra (50 µL para las harinas secadas en estufa y 10 L para la liofilizada). Seguidamente, se ajustó a 500 µL con tampón fosfato 50 mM a pH 7.8. La mezcla se agitó y se dejó reposar durante 2 minutos. A continuación, se añadieron 2 mL de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (75 g/L) y se sumergió en un baño de agua a 50 °C durante 10 minutos. La absorbancia se midió a 760 nm, usando un espectrofotómetro UV-vis (Hewlett Packard mod. 8453).

El compuesto de referencia utilizado para realizar la recta patrón fue el pyrogallol (0,65 – 2,6 mg/L) la ecuación de la recta obtenida fue:  $y = 7,23169x + 0,04372$  ( $R^2 = 0,9934$ )

Los resultados se expresaron como mg equivalentes de Pyrogallol por 100 g de harina.

### 3.7 Medidas de capacidad antioxidante

#### 3.7.1 Método DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo)

El método del radical libre DPPH, se llevó a cabo según el método descrito por Brand-Williams *et al.* (1995). Se tomaron 10 L de los diferentes extractos a los cuales se les añadió 40 L de Metanol y 950 L de la solución DPPH (previamente preparada). Su absorbancia se midió a 515 nm en un espectrofotómetro UV-Vis (Hewlett Packard mod. 8453).

Se elaboró una recta patrón utilizando como referencia el reactivo Trolox (0,2 – 3 mmol/L), la ecuación obtenida fue:  $y = 0,3172x - 0,0046$  ( $R^2 = 0,9951$ )

Los resultados se expresaron como mol equivalentes de Trolox por gramo de harina.

#### 3.7.2 Método ABTS + (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-carboxílico)

El método ABTS se realizó de acuerdo al procedimiento descrito por Re R. *et al.*, (1999). Se preparó una disolución de ABTS de concentración 7mM y una disolución de persulfato de potasio de concentración de 2,45mM. Después se mezcló 1 ml de la disolución de persulfato con la de ABTS y se dejó reaccionar durante 16 horas. Pasado ese tiempo, la solución obtenida se diluyó en agua hasta alcanzar una absorbancia de 0,7 para una longitud de onda de 734nm. Para medir la capacidad antioxidante de las muestras, se tomaron 10 µL del extracto de cada muestra y se añadieron 990 µL de la solución ABTS preparada, se dejó reaccionar durante 10 minutos en la oscuridad y se midió su absorbancia a 734 nm en un espectrofotómetro UV-Vis (Hewlett Packard mod. 8453).

El compuesto de referencia utilizado para realizar la recta patrón fue el Trolox (0,2 – 2 mmol/L), la ecuación de la recta obtenida fue:  $y = 0,2985x + 0,0232$  ( $R^2 = 0,9908$ )

Los resultados se expresaron como mol equivalentes de Trolox por g de harina.

### 3.7.3 Método FRAP (2, 4, 6- tripiridil-s-triazina)

El método FRAP se realizó siguiendo la metodología descrita por Benzie *et al.*, (1996). Se preparó una solución FRAP con una relación de reactivos 1:1:10 (TPTZ: FeCl<sub>3</sub>: Buffer). A continuación se midió la actividad antioxidante de las muestras tomando 100 µL de extracción de muestra y 900 L de la solución FRAP. Se dejó reaccionar durante 10 minutos en oscuridad y se midió su absorbancia a 593 nm en un espectrofotómetro UV-Vis (Hewlett Packard mod. 8453).

Se elaboró una recta patrón utilizando como referencia el compuesto Trolox (0,2 – 2 mmol/L), siendo su ecuación:  $y=1,0239x+0,0709$  ( $R^2= 0,9948$ )

Los resultados se expresaron como mol equivalentes de Trolox por g de harina.



### 3.8 Análisis estadístico

Todas las determinaciones se realizaron por triplicado. Los resultados fueron expresados como la media  $\pm$  la desviación estándar. La comparación de medias se realizó mediante un análisis de varianza (ANOVA) y mediante la prueba de rangos múltiples de Duncan usando el software SPSS v 21.0 (SPSS Inc., Chicago-Illinois-USA). La diferencia significativa fue establecida como ( $p < 0,05$ ).





## **4. Resultados y discusión**

## 4. Resultados y discusión

### 4.1 Clorofilas y polifenoles totales

La tabla 2 muestra el contenido de clorofila y polifenoles totales para los diferentes tipos de harinas obtenidas según el estado de maduración de las pieles y el método de deshidratación empleado para su obtención. Al comparar entre los diferentes métodos de deshidratación utilizados, se observó que el contenido de polifenoles totales en las muestras de harinas obtenidas por liofilización fue significativamente mayor que el de las muestras de harinas obtenidas por deshidratación con estufa, independientemente del estado de madurez de las pieles de aguacate. La muestra de harinas elaboradas a partir de piel de aguacate verde (HV) presentó un 55,42% más de polifenoles en la muestra liofilizada respecto a la deshidratada con estufa. En las harinas elaboradas a partir de piel de aguacate premaduro (HP) esta diferencia fue del 67,28%, y para las harinas elaboradas a partir de piel de aguacate maduro (HM) la diferencia en el contenido de polifenoles comparando la liofilización a la deshidratación con estufa fue del 74,76%. Esta diferencia en el contenido de polifenoles es el resultado de la ausencia del efecto de la temperatura sobre la degradación de los polifenoles presentes en la piel durante el proceso de liofilización, por lo tanto se degradaron en mayor medida cuando la deshidratación se realizó en estufa (24 h 50 °C) (Sogi et al., 2013).

Al comparar los resultados obtenidos para el mismo método de deshidratación, se observó que en las muestras liofilizadas, las harinas HM mostraron mayor contenido de polifenoles totales (112,28 mg/g) frente a 81,08 y 83,44 mg/g para HV y HP respectivamente. En otro estudio en el que se elaboró harina a partir de piel de aguacate, utilizando el mismo método de deshidratación, se obtuvieron resultados similares a los del presente estudio en el contenido de polifenoles totales (87 mg/g frente a 112,28; 81,08; 83,44 para HV, HP y HM, respectivamente). En el mismo estudio, también elaboraron harina liofilizada a partir de pieles de otros frutos tropicales, frente a los cuales los resultados del presente estudio, independientemente del estado de maduración de las muestras presentaron mayores contenidos en polifenoles (112,28 mg/g ms; 81,08mg/g ms; 83,44mg/g ms para HV, HP y HM respectivamente frente a 15 mg/g en papaya, 18 mg/g en maracuyá y 20 mg/g en kiwi) (Matsusaka et al., 2010).

Por otro lado, al comparar los resultados de las muestras deshidratadas con estufa, se observó que la HV fue la muestra que presentó mayor contenido en polifenoles (36,14 mg/g), mientras que las harinas HM y HP, no presentaron diferencias significativas entre su contenido en polifenoles (27,30 y 28,33 mg/g respectivamente).

En otro estudio donde elaboraron harina de piel de mango (*Mangifera indica L.*) deshidratando con estufa a 60 °C 24 h (Sogi et al., 2013), el contenido de polifenoles de, fue ligeramente inferior (23,20 mg /g) al obtenido para las harinas de piel de aguacate en el presente estudio

En cuanto al contenido en clorofila, al comparar los resultados entre los métodos de deshidratación, se observó que las harinas HV y HM liofilizadas reportaron mayor contenido de clorofila respecto a las mismas muestras deshidratadas con estufa (HV liofilizada 2,02 mg/g frente a 1,69 mg/g para HV deshidratada en estufa) (HM liofilizada 3,01 mg/g frente a 1,28 mg/g para HM deshidratada en estufa). En las muestras de harinas liofilizadas se observó una tendencia de aumento en el contenido de clorofila según avanzaba el estado de maduración de las muestras. En cambio, en las muestras deshidratadas mediante estufa, la muestra que presentó mayor cantidad de clorofila fue la HP con 3,79 mg/g, mientras que la muestra de harina obtenida de piel de aguacate madura fue la que menor cantidad de clorofila presentó (1,28 mg/g). En otra investigación en la que se estudiaron en contenido en clorofila presente en la piel liofilizada de manzanas Var. Granny Smith. (Delgado-Pelayo et al., 2014), los valores presentados para el contenido en clorofila fueron menores (1,3 mg/g) a los reportados por todas las muestras liofilizadas del presente estudio, y similares a los de las muestras HM deshidratadas en estufa (1,28 mg/g)

Tabla 2: Contenido en clorofila y polifenoles totales (mg /g peso seco) en harina de piel de aguacate en distintos estados de maduración.

| Parámetro                                   | Tratamiento | Muestras de harina |               |                |
|---|-------------|--------------------|---------------|----------------|
|   |             | HV                 | HP            | HM             |
| <b>CLorofila (mg/g peso seco)</b>           | Estufa      | 1,69 ± 0,03B       | 3,79 ± 0,03C  | 1,28 ± 0,01A   |
|   | Liofilizado | 2,02 ± 0,28A       | 2,46 ± 0,03B  | 3,01 ± 0,07C   |
| <b>Polifenoles totales (mg/g peso seco)</b> | Estufa      | 36,14 ± 2,07B      | 27,30 ± 0,80A | 28,33 ± 0,84A  |
|   | Liofilizado | 81,08 ± 3,75A      | 83,44 ± 6,34A | 112,28 ± 9,48B |

Los valores son la media de 3 determinaciones ± Desviación estándar. Letras mayúsculas en la misma fila indican diferencias significativas (p<0,05). HV: Harina de piel de aguacates verdes, HP Harina de piel de aguacates premaduros, HM harina de piel de aguacates maduros.

## 4.2 Capacidad antioxidante

### 4.2.1 Método ABTS

La tabla 4 muestra la capacidad antioxidante usando diferentes métodos (ABTS, FRAP y DPPH) para las muestras de harinas obtenidas según el estado de maduración de las pieles y el método de deshidratación empleado para su obtención. Para el método ABTS, se observó que las todas las muestras de harina obtenida por liofilización mostraron mayor capacidad antioxidante que las muestras de harina obtenida por deshidratación con estufa, con independencia de su estado de madurez. Sogi et. al 2013, obtuvieron harina a partir de piel de mango deshidratando las pieles en estufa (60° hasta peso constante) y por liofilización, en este estudio, las muestras liofilizadas también presentaron mayor capacidad antioxidante según el método ABTS que las secadas con estufa. Cuando en el presente estudio se comparó entre las diferentes muestras de harina obtenidas por el mismo método de deshidratación, se observó que para las harinas liofilizadas, las muestras HV y HM, presentaron mayor capacidad antioxidante que la HP (4190,78 y 4122,88  $\mu\text{mol/g}$ , frente a 3823,48  $\mu\text{mol/g}$ , respectivamente). Cuando se compararon las muestras deshidratadas con estufa, la muestra HV fue la que mayores capacidad antioxidante reportó (3370,04  $\mu\text{mol/g}$ ), mostrando diferencias estadísticamente significativas respecto a la HM (2854,85  $\mu\text{mol/g}$ ).

### 4.2.2 Método FRAP

Para el método FRAP, cuando se compararon los dos métodos de deshidratación, se observó que las harinas liofilizadas presentaron mayor capacidad antioxidante que las deshidratadas con estufa independientemente de su estado de maduración. La HV liofilizada mostró un 63% más de capacidad antioxidante frente a la HV deshidratada con estufa, la HP liofilizada presentó un 26,58% más de capacidad antioxidante que la HP deshidratada con estufa y la HM liofilizada presentó un 30,75% más de capacidad antioxidante que la misma muestra deshidratada con estufa. Cuando se compararon los resultados entre los diferentes tipos de harina para el mismo método de deshidratación, se observó que las HM liofilizadas, mostraron mayor capacidad antioxidante que las HV y HP liofilizadas con 3307,07  $\mu\text{mol/g}$  frente a 2172,85 y 2058,73  $\mu\text{mol/g}$  respectivamente. En el caso de las muestras deshidratadas por estufa, la que presentó mayor capacidad antioxidante fue la HV con 802,64  $\mu\text{mol/g}$  frente a 541,61 y 355,72  $\mu\text{mol/g}$  para HP y HM, respectivamente. Al comparar estos resultados con un estudio donde elaboraron harinas a partir de piel de aguacate deshidratada en estufa (60° C 24h), la capacidad antioxidante según el método FRAP reportó valores similares (422  $\mu\text{mol/g}$ ) a los de pieles HP y HM del presente estudio (Rotta et al. 2016).

### 4.2.3 Método DPPH

En cuanto al método DPPH se observó, al igual que en los métodos FRAP y ABTS, que las harinas de pieles de aguacate liofilizadas, mostraron mayor capacidad antioxidante que las harinas obtenidas por deshidratación con estufa (24 h a 50 °C) independientemente del estado de maduración de las muestras. Al comparar con otro estudio donde se elaboró harina de piel de aguacate utilizando los mismos métodos de deshidratación, se observó que la capacidad antioxidante medida con el método DPPH, presentó resultados similares a los del presente estudio, mostrando una mayor capacidad antioxidante las muestras liofilizadas que en las deshidratadas (Damila. et al., 2015). En el presente estudio, al comparar las diferentes muestras de harina con el mismo método de deshidratación, se observó que usando el método de liofilización, las harinas que presentaron mayor capacidad antioxidante fueron las harinas elaboradas a partir de piel de aguacates verdes y maduros (5145,36 y 4881,41  $\mu\text{mol/g}$  para HP y HM respectivamente), mientras que para las muestras secadas con estufa, la harina de piel de aguacate obtenida de frutos premaduros fue la que mayor capacidad antioxidante presentó con 3501,60  $\mu\text{mol/g}$  respecto a 3174,17  $\mu\text{mol/g}$  para HM.

Tabla 3: Capacidad antioxidante según los métodos ABTS, DPPH y FRAP ( $\mu\text{mol/g}$ ) en harina de piel de aguacate en distintos estados de maduración.

| Parámetro                                    | Método      | Muestras de harina    |                        |                       |
|--|-------------|-----------------------|------------------------|-----------------------|
|  |             | HV                    | HP                     | HM                    |
| <b>ABTS ( <math>\mu\text{mol/g}</math> )</b> | Estufa      | 3370,04 $\pm$ 254,66B | 3020,57 $\pm$ 169,60AB | 2854,85 $\pm$ 39,28A  |
|  | Liofilizado | 4190,78 $\pm$ 49,16B  | 3823,48 $\pm$ 34,24A   | 4122,88 $\pm$ 38,94B  |
| <b>FRAP ( <math>\mu\text{mol/g}</math> )</b> | Estufa      | 802,64 $\pm$ 201,03B  | 541,61 $\pm$ 40,57AB   | 355,72 $\pm$ 121,38A  |
|  | Liofilizado | 2172,85 $\pm$ 88,19A  | 2058,73 $\pm$ 196,86A  | 3307,07 $\pm$ 432,22B |
| <b>DPPH ( <math>\mu\text{mol/g}</math> )</b> | Estufa      | 3274,01 $\pm$ 55,93AB | 3501,60 $\pm$ 110,39B  | 3174,17 $\pm$ 112,59A |
|  | Liofilizado | 5145,36 $\pm$ 57,61B  | 4156,47 $\pm$ 329,91A  | 4881,41 $\pm$ 228,45B |

Los valores son la media de 3 determinaciones  $\pm$  Desviación estándar. Letras mayúsculas en la misma fila indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ). HV Harina de piel de aguacates verdes, HP Harina de piel de aguacates premaduros, HM harina de piel de aguacates maduros.

### 4.3 pH y °Brix

La tabla 5 muestra los valores de pH y °Brix para los diferentes tipos de harinas obtenidas según el estado de maduración de las pieles y el método de deshidratación empleado para su obtención. Cuando se estudiaron los valores de pH comparando los dos métodos de deshidratación, se observó que no hubo diferencias significativas ellos. Sin embargo, al comparar entre las diferentes muestras de harinas para el mismo método de deshidratación, se observaron diferencias en los valores de pH según avanzaba el estado de maduración de las pieles a partir de las cuales se obtuvieron las harinas. Al comparar entre HV y HM liofilizadas, la tendencia del valor de pH fue de disminución según aumentó el estado de madurez del tejido (5,65 y 5,07 respectivamente) mientras que comparando las mismas muestras HV y HM deshidratadas por estufa, se observó que el valor de pH aumentó con el estado de madurez (5,90 y 6, respectivamente). Mientras que la muestra HP mantuvo un valor similar de 6,09 en los dos métodos de deshidratación.

Al comparar el contenido de sólidos solubles totales (SST) entre los diferentes métodos de deshidratación, se observó que estos fueron significativamente mayores en las muestras liofilizadas respecto a las muestras deshidratadas con estufa. Para las muestras deshidratadas con estufa, la muestra de harinas de piel de aguacate premadura fue la que presentó mayor cantidad de SST (1,92 °Brix). Cuando se compararon los SST de las muestras obtenidas por liofilización, la muestra HM fue la que reportó el mayor valor (1,76 °Brix.). Para las muestras liofilizadas, la tendencia de los °Brix fue de aumento según aumentaba el estado de maduración de las muestras de harina (1,08; 1,16; y 1,76 respectivamente para HV, HP y HM).

Tabla 4: Valores de pH y °Brix medidos en harina de piel de aguacate en distintos estados de maduración.

| Parámetro | Método      | Muestras de harina |              |              |
|-----------|-------------|--------------------|--------------|--------------|
|           |             | HV                 | HP           | HM           |
| pH        | Estufa      | 5,90 ± 0,05A       | 6,09 ± 0,01C | 6,00 ± 0,05B |
|           | Liofilizado | 5,65 ± 0,02B       | 6,09 ± 0,02C | 5,07 ± 0,01A |
| °Brix     | Estufa      | 0,94 ± 0,05B       | 1,92 ± 0,21C | 0,60 ± 0,07A |
|           | Liofilizado | 1,08 ± 0,13A       | 1,16 ± 0,09A | 1,76 ± 0,05B |

Los valores son la media de 3 determinaciones ± Desviación estándar. Letras mayúsculas en la misma fila indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ). HV Harina de piel de aguacates verdes, HP Harina de piel de aguacates premaduros, HM harina de piel de aguacates maduros.

#### 4.4 Capacidad de retención de agua y capacidad de retención de aceite

La tabla 6 muestra los valores de capacidad de retención de agua y de aceite para los diferentes tipos de harinas obtenidas según el estado de maduración de las pieles y el método de deshidratación empleado para su obtención. Al comparar los resultados de capacidad de retención de agua entre las muestras para cada uno de los métodos de deshidratación, se observó que en ninguno de ellos las muestras presentaron diferencias estadísticamente significativas en función del estado de madurez de las pieles. Sin embargo, al estudiar la capacidad de retención de aceite de las muestras liofilizadas, se observó que las muestras HP, presentaron diferencias estadísticamente significativas respecto a las HV y HM (3,68 g aceite/g harina frente a 2,39 y 2,02 respectivamente). La capacidad de retención de aceite para las muestras deshidratadas en estufa, no presentó diferencias estadísticamente significativas en función de la madurez de las pieles. Las muestras de HM y las muestras HP, deshidratadas por cualquiera de los dos métodos reportaron valores de absorción mayores a 2 g aceite/g harina o 2 g agua/g harina. Por lo tanto, estas muestras de harina tienen la capacidad de absorber el doble de su peso en aceite o agua. Esta propiedad podría ser aprovechada para su utilización como ingrediente en la industria alimentaria, mejorando las propiedades de absorción de grasa en productos procesados (Mallek-Ayadi et al., 2017).

Tabla 5: Capacidades de retención de agua y de aceite (g agua / g harina) en harina de piel de aguacate en distintos estados de maduración.

| Parámetro                        | Método      | Muestras de harina |              |              |
|----------------------------------|-------------|--------------------|--------------|--------------|
|                                  |             | HV                 | HP           | HM           |
| Capacidad de retención de agua   | Estufa      | 2,80 ± 1,13A       | 2,20 ± 0,28A | 2,80 ± 1,13A |
|                                  | Liofilizado | 2,60 ± 0,28A       | 4,60 ± 1,98A | 2,42 ± 0,01A |
| Capacidad de retención de aceite | Estufa      | 1,28 ± 0,26A       | 2,39 ± 0,26A | 2,57 ± 1,04A |
|                                  | Liofilizado | 2,39 ± 0,26AB      | 3,68 ± 0,52B | 2,02 ± 0,26A |

Los valores son la media de 3 determinaciones ± Desviación estándar. Letras mayúsculas en la misma fila indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ). HV Harina de piel de aguacates verdes, HP Harina de piel de aguacates premaduros, HM harina de piel de aguacates maduros.

#### 4.5 Actividad de agua

En la tabla 7 están representados los valores de actividad de agua para los diferentes tipos de harinas obtenidas según el estado de maduración de las pieles y el método de deshidratación empleado para su obtención.

La actividad de agua reportó valores similares para las muestras HP y HV tanto para las muestras liofilizadas como para las deshidratadas en estufa. Para las harinas obtenidas mediante deshidratación con estufa, la muestra que reportó mayor actividad de agua fue la obtenida a partir de piel de aguacate maduro (0,30) mientras que en las muestras liofilizadas, la HM reportó menor nivel de actividad de agua, siendo la HV y la HP las que mayor actividad de agua presentaron. Ninguna de las muestras estudiadas presentaron valores de actividad de agua mayores a 0,6, por lo que se limitaría la proliferación de microorganismos patógenos (Torres et al., 2015).

Tabla 6: Actividad de agua en harina de piel de aguacate en distintos estados de maduración.

| Parámetro         | Método      | Muestras de harina |              |              |
|-------------------|-------------|--------------------|--------------|--------------|
|                   |             | HV                 | HP           | HM           |
| Actividad de agua | Estufa      | 0,24 ± 0,01A       | 0,24 ± 0,03A | 0,30 ± 0,01B |
|                   | Liofilizado | 0,31 ± 0,01B       | 0,31 ± 0,01B | 0,16 ± 0,01A |

Los valores son la media de 3 determinaciones ± Desviación estándar. Letras mayúsculas en la misma fila indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ). HV Harina de piel de aguacates verdes, HP Harina de piel de aguacates premaduros, HM harina de piel de aguacates maduros.

#### 4.6 Color

La tabla 8 muestra los valores Cie  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  para los diferentes tipos de harinas obtenidas según el estado de maduración de las pieles y el método de deshidratación empleado para su obtención. El parámetro  $L^*$  representa la luminosidad de la muestra oscilando desde 0 (negro) hasta 100 (blanco). Al comparar los valores del parámetro  $L^*$  para los dos métodos de deshidratación, se observó que las muestras liofilizadas presentaron mayor valor de  $L^*$ , podemos decir que las muestras liofilizadas presentaron mayor luminosidad que las deshidratadas con estufa. En las muestras deshidratadas con estufa, el valor de  $L^*$ , fue aumentando según aumentaba la madurez del tejido a partir del cual se obtuvo la harina (45,4; 49,37; 51,37 para HV, HP y HM respectivamente). Para las harinas obtenidas por liofilización este parámetro de luminosidad  $L^*$ , también aumentó según aumentaba el estado de madurez de la piel, sin embargo, la muestra HP, reportó un valor de  $L$  ligeramente menor (56,32) al obtenido en la muestra HV (59,37) la muestra HM reportó el mayor valor (62,74).

Los valores del parámetro  $a^*$  oscilan desde  $a=-60$  representando color verde hasta  $a=+60$  que representa el color rojo. Para las harinas que se deshidrataron con estufa, el mayor valor de  $a^*$  lo presentó la muestra HM (6), seguida de la muestra HV y de la muestra HP (4,35 y 1,61 respectivamente). En cambio, las muestras de harina liofilizada, presentaron valores de  $a^*$  negativos independientemente de su estado de madurez (-6,86; -5,3; -3,85 para HV, HP y HM respectivamente). Podemos decir por lo tanto, que las harinas liofilizadas mostraron mayor tonalidad verde y las muestras deshidratadas con estufa (50 °C 24 h) presentaron tonalidades rojas.

El parámetro  $b^*$  en las muestras deshidratadas con estufa no presentó diferencias significativas entre la HV y la HM (27,23 y 26,83 respectivamente), la muestra HP sin embargo, quedó por debajo de las dos anteriores con 24,06. Para las muestras liofilizadas la HV mostró diferencias significativas respecto a la HP y la HM (29,07 frente a 24,82 y 23,86 respectivamente). Estos valores del parámetro  $a^*$  podrían estar relacionados con las cantidades de clorofila mostradas por las harinas (tabla 1).

Para los dos métodos de deshidratación se observó que el parámetro  $b^*$  disminuyó según aumentaba el estado de maduración de las muestras, para las harinas deshidratadas con estufa los valores fueron de 27,23; 24,06; 26,83 para HV, HP y HM respectivamente. Las harinas liofilizadas presentaron valores de 29,07; 24,82; 23,86 para HV, HP y HM respectivamente. Podemos afirmar que en los dos métodos de deshidratación las harinas disminuyen su tonalidad amarilla.

Tabla 7: Parámetros de color L, a, b, en harina de piel de aguacate en distintos estados de maduración.

| Parámetro | Método      | Muestras de harina |                |                 |
|-----------|-------------|--------------------|----------------|-----------------|
|           |             | HV                 | HP             | HM              |
| L         | Estufa      | 45,4 ± 0,59 A      | 49,37 ± 1,58 B | 51,37 ± 0,38 B  |
|           | Liofilizado | 59,37 ± 0,67 D     | 56,32 ± 0,66 C | 62,74 ± 0,31 E  |
| a         | Estufa      | 4,35 ± 0,15 D      | 1,61 ± 0,26 C  | 6 ± 0,1 D       |
|           | Liofilizado | -6,86 ± 0,21 A     | -5,3 ± 0,2 AB  | -3,85 ± 0,08 B  |
| b         | Estufa      | 27,23 ± 0,51 AB    | 24,06 ± 3,33 A | 26,83 ± 0,47 AB |
|           | Liofilizado | 29,07 ± 0,22 B     | 24,82 ± 0,13 A | 23,86 ± 0,35 A  |

Los valores son la media de 3 determinaciones ± Desviación estándar. Letras mayúsculas en la misma fila indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ). HV Harina de piel de aguacates verdes, HP Harina de piel de aguacates premaduros, HM harina de piel de aguacates maduros.



## **5. Conclusiones**



## **5. Conclusiones**

Las harinas obtenidas mediante deshidratación en estufa (24 h a 50°C) o mediante liofilización de pieles de aguacate en diferentes estados de maduración, presentaron un elevado contenido de compuestos funcionales tales como polifenoles y clorofila, siendo estos valores mayores en las harinas obtenidas de pieles maduras respecto a las verdes. La capacidad antioxidante determinada por los tres métodos también presentó valores elevados en las harinas elaboradas en los diferentes estados de maduración. La actividad de agua fue la adecuada para asegurar la estabilidad microbiológica y físico-química de la harina obtenida. Las capacidades de absorción de agua y de aceite fueron muy elevadas, llegando a valores que duplican el peso de la harina. Respecto a las propiedades funcionales de la harina obtenida, la liofilización fue el mejor método para la elaboración de las harinas a partir de las pieles de aguacate, ya que resultó en un mayor contenido en polifenoles y una capacidad antioxidante más alta que en las harinas elaboradas mediante deshidratación en estufa. Debido a la alta capacidad de retención de aceite de la harina de piel de aguacate, esta podría ser potencialmente utilizada en formulaciones o procesos de la industria alimentaria en los que se requiera esta propiedad.

A la vista de los resultados se puede afirmar que la harina de piel de aguacate tiene potencial en la industria alimentaria para ser utilizada como ingrediente en formulaciones para el desarrollo de alimentos funcionales. En este caso se hace necesario el estudio de la proporción óptima de harina de piel de aguacate en las formulaciones de productos para que estos tengan una calidad tecnológica y sensorial adecuada.



## **6. Bibliografía**

## **6. Bibliografía**

- Alvarez, M., Gonz, J. J., I, J., & Ihs-uma-csic, L. M. (2015). Evaluation of composition and performance of composts derived from guacamole production residues, *147*, 132–139. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2014.09.016>
- Arpaia, M. L., Collin, S., Sievert, J., & Obenland, D. (2015). Influence of cold storage prior to and after ripening on quality factors and sensory attributes of “Hass” avocados. *Postharvest Biology and Technology*, *110*, 149–157. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2015.07.016>
- Ayala-Zavala, J. F., Vega-Vega, V., Rosas-Domínguez, C., Palafox-Carlos, H., Villa-Rodriguez, J. A., Siddiqui, M. W., González-Aguilar, G. A. (2011). Agro-industrial potential of exotic fruit byproducts as a source of food additives. *Food Research International*, *44*(7), 1866–1874. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.02.021>
- BEDCA (Base de datos española de composición de alimentos de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición). Consultada en junio de 2017. <http://www.bedca.net/bdpub/index.php>
- Benzie, I. ., & Strain, J. . (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, *239*(1), 70–6. <https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292>
- Calabrese F. (1992) El aguacate. España, Madrid: Ediciones Mundi-Prensa. Pps (113-115)
- Costagli, G., & Betti, M. (2015). Avocado oil extraction processes: method for cold-pressed high-quality edible oil production versus traditional production. *Journal of Agricultural Engineering*, *46*(3), 115. <https://doi.org/10.4081/jae.2015.467>
- Cox, K. A., McGhie, T. K., White, A., & Woolf, A. B. (2004). Skin colour and pigment changes during ripening of “Hass” avocado fruit. *Postharvest Biology and Technology*, *31*(3), 287–294. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2003.09.008>

- Delgado-Pelayo, R., Gallardo-Guerrero, L., & Hornero-Méndez, D. (2014). Chlorophyll and carotenoid pigments in the peel and flesh of commercial apple fruit varieties. *Food Research International*, 65(PB), 272–281. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.03.025>
- Diario Sur (29/10/2012) Frutas Montosa incrementa producción.  
Recuperado de [www.diariosur.com](http://www.diariosur.com)
- Duarte, P. F., Chaves, M. A., Borges, C. D., & Mendonça, C. R. B. (2016). Avocado: characteristics, health benefits and uses. *Ciênc. Rural*, 46(4), 747–754. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20141516>
- Eskicioglu, V., Kamiloglu, S., & Nilufer-Erdil, D. (2015). Antioxidant dietary fibres: Potential functional food ingredients from plant processing by-products. *Czech Journal of Food Sciences*, 33(6), 487–499. <https://doi.org/10.17221/42/2015-CJFS>
- FAOSTAT (Food and Agriculture Organization of the United Nations database) (2013).
- Interempresas (17/02/2017) El aguacate se convierte en el cultivo emergente de la provincia de Alicante y sustituye el 80% de los cítricos de la Marina Baixa.  
Recuperado de <http://www.interempresas.net/>
- Lee, S. K., Young, R. E., Schiffman, P. M., & Coggins, C. W. (1983). Maturity Studies of Avocado Fruit Based on Picking Dates and Dry Weight. *Journal of American Society of Horticultural Science*, 108(3), 390–394.
- Lima, H., Correa, N. C. F., Santos, O., & de Fátima Henriques Lourenco, L. (2014). Use of agroindustrial wastes (aai fiber and glycerol) in the preparation of cookies. *Journal of Food Science and Technology*, 52(7), 4593–4599. <https://doi.org/10.1007/s13197-014-1493-5>
- Mallek-Ayadi, S., Bahloul, N., & Kechaou, N. (2016). Characterization, phenolic compounds and functional properties of Cucumis melo L. peels. *Food Chemistry*, 221, 1691–1697. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.10.117>

- Matsusaka, Y., & Kawabata, J. (2010). Evaluation of Antioxidant Capacity of Non-Edible Parts of Some Selected Tropical Fruits. *Food Science and Technology Research*, 16(5), 467–472. <https://doi.org/10.3136/fstr.16.467>
- Morais, D. R., Rotta, E. M., Sargi, S. C., Schmidt, E. M., Bonafe, E. G., Eberlin, M. N., ... Visentainer, J. V. (2015). Antioxidant activity, phenolics and UPLC-ESI(-)-MS of extracts from different tropical fruits parts and processed peels. *Food Research International*, 77, 392–399. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.08.036>
- Navarro, R., Díaz-calder, P., Saavedra, J., Fuentealba, C., Astudillo-castro, C., Toledo, L., Galvez, L. (2017). Industrial avocado waste : Functional compounds preservation by convective drying process s C o, 198.
- Olaeta, J. a. (2003). Industrialización Del Aguacate : Estado Actual Y Perspectivas Futuras. *Actas V Congreso Mundial Del Aguacate*, 749–754.
- Palou, E., Hernández-Salgado, C., López-Malo, A., Barbosa-Cánovas, G. V, Swanson, B. G., & Welti-Chanes, J. (2000). High pressure-processed guacamole. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 1(1), 69–75. [https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/S1466-8564\(99\)00002-8](https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/S1466-8564(99)00002-8)
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant Activity Applying an Improved Abts Radical Cation Decolorization Assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9), 1231–1237. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)
- Rotta, E. M., de Morais, D. R., Biondo, P. B. F., dos Santos, V. J., Matsushita, M., & Visentainer, J. V. (2016). Use of avocado peel (*Persea americana*) in tea formulation: a functional product containing phenolic compounds with antioxidant activity. *Acta Scientiarum-Technology*, 38(1), 23–29. <https://doi.org/10.4025/actascitechnol.v38i1.27397>

- Sogi, D. S., Siddiq, M., Greiby, I., & Dolan, K. D. (2013). Total phenolics, antioxidant activity, and functional properties of “Tommy Atkins” mango peel and kernel as affected by drying methods. *Food Chemistry*, 141(3), 2649–2655. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.05.053>
- Téliz y Mora (2007) El aguacate y su manejo integrado. México, D.F: Mundi Prensa México, S.A. de C.V. pps (9, 37-46)
- Tesfay, S. Z., Bertling, I., & Bower, J. P. (2010). Anti-oxidant levels in various tissues during the maturation of “Hass” avocado (*Persea americana* Mill.). *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 85(2), 106–112. <https://doi.org/10.1080/14620316.2010.11512639>
- Torres, C. A., Romero, L. A., & Diaz, R. I. (2015). Quality and sensory attributes of apple and quince leathers made without preservatives and with enhanced antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 62(2), 996–1003. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.01.056>
- Queralt E. (1987) El cultivo moderno del aguacate. España, Barcelona: Editorial de Vecchi S.A. Pps (17-18)
- UC Davis Postharvest technology. (s.f.) Recomendaciones para mantener la calidad poscosecha. Recuperado de <http://postharvest.ucdavis.edu/>
- Wang, W., Bostic, T. R., & Gu, L. (2010). Antioxidant capacities, procyanidins and pigments in avocados of different strains and cultivars. *Food Chemistry*, 122(4), 1193–1198. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.03.114>
- Woolf, A. B., Wibisono, R., Farr, J., Hallett, I., Richter, L., Oey, I., Requejo-Jackman, C. (2013). Effect of high pressure processing on avocado slices. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 18, 65–73. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2013.02.011>