



---

---

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGRÍCOLAS**

**“OBTENCIÓN DE FENOLES TOTALES DE EXTRACTOS  
HIDROALCOHÓLICOS EN DIFERENTES TIEMPOS DE MACERACIÓN DE  
HOJAS DE GUAYABA (*Psidium guajava* L.) Y DE AGUACATE (*Persea  
americana* Mill.)”**

**TESIS**

**QUE COMO TRÁMITE INICIAL PARA LA EVALUACIÓN PROFESIONAL DE  
LA CARRERA DE:**

**INGENIERO AGRÓNOMO INDUSTRIAL**

**PRESENTA:**

**ISAURA PALOMARES SALVADOR**  
**(N° DE CUENTA: 1322481, GENERACIÓN 41)**

**ASESORES DE TESIS:**

**DRA. MARÍA DOLORES MARIEZCURRENA BERASAIN**  
**DRA. DORA LUZ PINZÓN MARTÍNEZ**

**MODALIDAD: TESIS INDIVIDUAL**

**ENERO 2019**

**CAMPUS UNIVERSITARIO “EL CERRILLO”, EL CERRILLO  
PIEDRAS BLANCAS, MUNICIPIO DE TOLUCA, MÉX**



## **DEDICATORIA**

A mis padres y hermanos

## **AGRADECIMIENTOS**

A DIOS por guiar siempre mi camino y por permitirme terminar una etapa más en la vida.

A mis padres por su amor y cariño y por su apoyo incondicional en todo momento.

A mis hermanos y familiares que de alguna manera estuvieron apoyándome.

A la doctora María Dolores Mariescurrena Berasaín por su colaboración y asesoría en todo momento.

A la doctora Dora Luz Pinzón Martínez por su colaboración.

## RESUMEN

La producción de residuos agroindustriales representa un área de oportunidad para la obtención de productos bioactivos para su aprovechamiento. Sin embargo, la concentración de fenoles totales durante su extracción puede variar por afinidad con el solvente, así como por el método de extracción y el tiempo de maceración. El presente trabajo tuvo como objetivo, determinar el tiempo ideal de maceración para obtener la mayor cantidad de compuestos bioactivos (fenoles totales) en extractos hidroalcohólicos (Etanol 50%) de hojas de guayaba (*Psidium guajava* L.) y aguacate (*Persea americana* Mill.) mediante el método de Folin-Ciocalteu, por solventes, concentración de Saponinas y factores físicos de calidad (pH y color). Finalmente, la concentración de fenoles por Folin-Ciocalteu, por solventes y la concentración de saponinas aumentó considerablemente con el paso del tiempo desde el día 1, hasta el día 90, tanto para los extractos de hojas de aguacate, como para los de hojas de guayaba. En cuanto a la estabilidad de los extractos, el pH se fue acidificando ligeramente a través del tiempo, sin embargo, fueron valores sugeridos para mantener estable el extracto. En relación al color, en sus variables L\*, a\*, b\*, c\* y h, también se mantuvo estable a través del tiempo.

Palabras clave: Tiempo de maceración, extractos hidroalcohólicos, *Persea americana* Mill., *Psidium guajava* L., fenoles totales.

## **ABSTRACT**

Agroindustrial waste production has been an opportunity area to biologically active compounds isolation in order to increase its use. However, total phenol concentration during its isolation may present variations according to solvent affinity; as well as, isolation methodology and maceration time effects. The main objective of the present research was to determinate the ideal maceration time to obtain the highest bioactive compounds concentration (Total phenols) in hydroalcoholic extracts (Ethanol 50%) from guava (*Psidium guajava* L.) leaves and avocado (*Persea americana* Mill.) by Folin- Ciocalteu method and solvent method together with Saponins concentration and physical quality parameters (Colour and pH). Finally, total phenol concentration either Folin-Ciocalteu or Solvent Method with Saponins concentration increased considerably as time increased since day one to 90<sup>th</sup> day for both extracts (Guava or avocado leaves).

Regarding the stability of the extracts, pH was acidified slightly over time; nevertheless, those values were suggested as adequate to keep stable extracts. L\*, a\*, b\*, c\* and h colour variables presented also time stability in experimental conditions done.

**Key words:** Maceration time, hydroalcoholic extracts, *Persea americana* Mill. *Psidium guajava* L., total phenol concentration

## ÍNDICE GENERAL

	Pág.
DEDICATORIA .....	i
AGRADECIMIENTOS .....	ii
RESUMEN .....	iii
ABSTRACT .....	iv
ÍNDICE GENERAL .....	v
ÍNDICE DE GRÁFICAS .....	x
ÍNDICE DE CUADROS .....	xi
I. INTRODUCCIÓN .....	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA .....	3
2.1. Residuos agrícolas .....	3
2.2. Fenoles .....	3
2.2.1. Polifenoles .....	5
2.3. Metabolitos secundarios .....	6
2.4. Saponinas .....	7
2.5. Color .....	7
2.6. Métodos de extracción de compuestos fenólicos .....	9
2.6.1. Extracción con agua .....	9
2.6.1.1. Infusión .....	9

2.6.1.2. Destilación por arrastre con vapor de agua .....	9
2.6.1.3. Decocción.....	10
2.6.2. Extracción con solventes orgánicos .....	10
2.6.2.1. Maceración .....	10
2.6.2.2. Lixiviación o percolación .....	11
2.6.2.3. Extracción Soxhlet.....	11
2.6.2.4. Digestión.....	11
2.6.2.5. Fluido supercrítico.....	11
2.7. Aguacate ( <i>Persea americana</i> Mill.).....	12
2.7.1. Aspectos generales.....	12
2.7.2. Requerimientos climáticos.....	12
2.7.3. Variedades .....	13
2.7.3.1. <i>Hass</i> .....	13
2.7.3.2. <i>Fuerte</i> .....	14
2.7.3.3. <i>Criollo</i> .....	14
2.7.3.4. <i>Bacón</i> .....	14
2.7.3.5. <i>Pinkerton</i> .....	14
2.7.3.6. <i>Gwen</i> .....	15
2.7.3.7. <i>Reed</i> .....	15
2.7.4. Producción en México .....	15

2.7.5. El aguacate como alimento funcional .....	16
2.8. Guayaba ( <i>Psidium guajava</i> L.).....	16
2.8.1. Características generales .....	16
2.8.2. Requerimientos climáticos .....	17
2.8.3. Variedades .....	17
2.8.3.1. Caxcana .....	17
2.8.3.2. Merita.....	18
2.8.3.3. Calvillo siglo XXI .....	18
2.8.3.4. Huejucar .....	18
2.8.3.5. Hicrozac .....	18
2.8.4. Producción Nacional.....	19
2.8.5. La guayaba como alimento funcional.....	19
III.    OBJETIVOS.....	20
3.1. Objetivo general.....	20
3.2. Objetivos específicos.....	20
IV.    HIPÓTESIS .....	22
V.    JUSTIFICACIÓN.....	23
VI.    MATERIALES Y MÉTODOS .....	24
6.1. Recolección de hojas .....	24
6.2. Lavado de hojas.....	24



<b>6.3. Secado de las hojas .....</b>	<b>25</b>
<b>6.4. Molienda .....</b>	<b>25</b>
<b>6.5. Preparación de los extractos.....</b>	<b>25</b>
<b>6.6. Determinación de fenoles totales.....</b>	<b>25</b>
<b>6.6.1. Determinación de fenoles por el método de Folin-Ciocalteu .....</b>	<b>25</b>
<b>6.6.2. Determinación de fenoles y saponinas por solventes .....</b>	<b>26</b>
<b>6.7. Determinación de pH.....</b>	<b>27</b>
<b>6.8. Determinación de color.....</b>	<b>27</b>
<b>VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>28</b>
<b>7.1. Determinación de fenoles por el método de Folin-Ciocalteu.....</b>	<b>28</b>
<b>7.2. Determinación de fenoles por solventes.....</b>	<b>33</b>
<b>7.3. Determinación de saponinas.....</b>	<b>34</b>
<b>7.4. Determinación de pH de los extractos de hojas de aguacate y de guayaba .....</b>	<b>36</b>
<b>7.5. Determinación de color (L*, a*, b*, c* y h) de los extractos de hoja de aguacate y de guayaba .....</b>	<b>39</b>
<b>7.5.1. Determinación de color L* .....</b>	<b>39</b>
<b>7.5.2. Determinación de color a* .....</b>	<b>41</b>
<b>7.5.3. Determinación de color b* .....</b>	<b>43</b>
<b>7.5.4. Determinación de color c* .....</b>	<b>44</b>

7.5.5. Determinación de color h .....	46
7.6. Color de los extractos .....	49
7.6.1. Color ( $a^*$ y $b^*$ ) de los extractos de hojas de aguacate .....	49
7.6.2. Color ( $a^*$ y $b^*$ ) de los extractos de hojas de guayaba .....	50
7.7. Correlación múltiple para fenoles por el método de Folin-Ciocalteu, por solventes y para saponinas para los extractos de hojas de aguacate y de guayaba .....	51
7.7.1. Regresión lineal simple para fenoles por Folín-Ciocalteu en extractos de hojas de aguacate .....	51
7.7.2. Regresión lineal simple para fenoles por solventes en extractos de hojas de aguacate .....	52
7.7.3. Regresión lineal simple para saponinas en los extractos de hojas de aguacate.....	53
7.7.4. Regresión lineal para fenoles por Folín-Ciocalteu en los extractos de hojas de guayaba .....	53
7.7.5. Regresión lineal simple para fenoles por solventes en los extractos de hojas de guayaba .....	54
7.7.5. Regresión lineal simple para saponinas en los extractos de hojas de guayaba.....	55
VIII. CONCLUSIONES .....	57
IX. BIBLIOGRAFÍA .....	58

## ÍNDICE DE GRÁFICAS

	Pág.
Gráfica 1. Concentración de fenoles por el método de Folin-Ciocalteu de los extractos de hojas de aguacate y de guayaba a través del tiempo.....	32
Gráfica 2. Concentración de fenoles por solventes de los extractos de hojas de aguacate y de guayaba a través del tiempo.....	34
Gráfica 3. Concentración de saponinas de los extractos en hojas de aguacate y de guayaba a través del tiempo .....	36
Gráfica 4. Determinación de pH de los extractos de hojas de aguacate y de guayaba .....	38
Gráfica 5. Determinación de color L* de los extractos de hojas de aguacate y de guayaba .....	40
Gráfica 6. Determinación de color a* de los extractos de hojas de aguacate y de guayaba .....	42
Gráfica 7. Determinación de color b* de los extractos de hojas de aguacate y de guayaba .....	44
Gráfica 8. Determinación de color c* de los extractos de hojas de aguacate y guayaba .....	46
Gráfica 9. Determinación de color h de los extractos de hojas de aguacate y de guayaba .....	47
Gráfica 10. Ubicación del color en el círculo cromático de los extractos de las hojas de aguacate a través del tiempo.....	49

<b>Gráfica 11. Ubicación de color en el círculo cromático de los extractos de guayaba a través del tiempo .....</b>	<b>50</b>
<b>Gráfica 12. Regresión lineal simple de fenoles por Folin-Ciocalteu en relación al tiempo para los extractos de hojas de aguacate.....</b>	<b>52</b>
<b>Gráfica 13. Regresión lineal simple de fenoles por solventes en relación al tiempo para los extractos de hojas de aguacate .....</b>	<b>52</b>
<b>Gráfica 14. Regresión lineal simple de saponinas en relación al tiempo para los extractos de hojas de aguacate .....</b>	<b>53</b>
<b>Gráfica 15. Regresión lineal simple de fenoles por Folín-Ciocalteu en relación al tiempo para los extractos de hojas de guayaba.....</b>	<b>54</b>
<b>Gráfica 16. Regresión lineal simple de fenoles por solventes en relación al tiempo para los extractos de hojas de guayaba .....</b>	<b>55</b>
<b>Gráfica 17. Regresión lineal simple de saponinas en relación al tiempo para los extractos de hojas de guayaba .....</b>	<b>56</b>

## ÍNDICE DE CUADROS

	Pág.
<b>Cuadro 1. Resultados de las medias de los tratamientos para fenoles por Folín-Ciocalteu, fenoles por solventes, concentración de saponinas, pH y color (L*, a*, b*, c*, y h) para especie (aguacate y guayaba), para tiempo (1, 3, 7, 14, 30, 60 días).....</b>	<b>29</b>
<b>Cuadro 2. Resultados de color h de los 14 extractos de aguacate y de guayaba .....</b>	<b>48</b>

## I. INTRODUCCIÓN

El término “fenoles” comprende aproximadamente 8,000 compuestos que aparecen en la naturaleza. Muchas de estas estructuras, se encuentran de manera natural en especies vegetales y su distribución en los tejidos y células, varía considerablemente de acuerdo al tipo de compuesto y especie.

Las frutas se destacan por su alto contenido de compuestos fenólicos, principalmente, los flavonoles (Muñoz *et al.*, 2015).

Los compuestos fenólicos en especies vegetales pueden variar, dentro de un mismo individuo, en respuesta a factores genéticos, ontogénicos, bióticos y abióticos, presentando diferentes concentraciones en los diversos órganos de la planta. En lo que respecta a las hojas, la regulación de la síntesis de compuestos fenólicos es una parte importante del desarrollo de dicho órgano (Pérez *et al.*, 2014).

Escobar, 2010 en su estudio indico que obtuvo 11.38 mg GAE g<sup>-1</sup> en extractos alcohólicos de las cáscaras de toronja, utilizando 50mL de etanol al 80% (proporción cáscara/etanol 1:5), a temperatura ambiente (25±5 °C) dejando macerar durante una semana.

México es el principal productor de aguacate a nivel mundial, seguido de Indonesia y de República Dominicana, lo que resalta el peso que tiene México en la producción de aguacate y su papel como país fijador de precios (SIAP, 2017).

En México la producción de aguacate ha crecido de manera importante en los últimos años. En el 2015 se obtuvieron en total un millón 624 mil ton de

aguacate, en tanto que hasta julio del 2016 la producción alcanzó las 986 mil t. La producción nacional de aguacate, a diciembre de 2017, fue de un millón 997 mil t; 6% por arriba que la cosechada en el mes similar del año previo. Este aumento superior a las 119 mil toneladas deriva de una mayor superficie cosechada y al control de las plagas que afectan al fruto, lo que favorece un mayor rendimiento (SIAP, 2017).

La producción de guayaba en México permite consolidar al país como el quinto productor mundial de este fruto. El consumo nacional aparente de guayaba de 1997 a 2007 pasó de 179.8 miles de toneladas a 267.9 miles de ton. Lo cual equivale a un crecimiento del 49% y a una tasa media de crecimiento anual (TMCA) durante el período del 4.9%. La producción nacional de esta fruta en 2016 fue cercana a las 311 mil t (SIAP, 2016).

La presente investigación tiene como objetivo determinar el tiempo ideal de maceración de un extracto hidroalcohólico de guayaba (*Psidium guajava* L.) y aguacate (*Persea americana* Mill.) para obtener la mayor cantidad de fenoles totales.

## **II. REVISIÓN DE LITERATURA**

### **2.1. Residuos agrícolas**

Los residuos agrícolas corresponden al material liberado en la recolección y proceso de alimentos. Comprende pajas, cultivos de bulbos, residuos de invernaderos y podas de árboles frutales (Castells, 2012).

En otra definición se conoce como residuos agrícolas a todos aquellos que se generan a partir de cultivos de leña o de hierba y a los producidos en el desarrollo de actividades propias del sector. Más concretamente, estos residuos se obtienen de los restos de cultivos o de limpiezas que se hacen del campo para evitar las plagas y pueden aparecer en estado sólido, como la leña, o en estado líquido, como los purines u otros elementos residuales obtenidos en actividades agropecuarias. Así mismo, también se generan por necesidades forestales, no energéticas, y son materiales que no tienen calidad suficiente para otras aplicaciones que no sean las energéticas. Proviene de cultivos leñosos o herbáceos, que se caracterizan por una marcada estacionalidad, tanto por razón del momento de su producción como por la necesidad de retirarlos del campo en el menor tiempo posible, para no interferir en otras tareas agrícolas y evitar la propagación de plagas e incendios (Cuadros, 2008).

### **2.2. Fenoles**

El término “fenoles” comprende aproximadamente 8,000 compuestos que aparecen en la naturaleza. Muchas de estas estructuras, se encuentran de manera natural en especies vegetales y su distribución en tejidos y células,

varía considerablemente de acuerdo con el tipo de compuesto y a la especie. Las frutas se destacan por su alto contenido de estos compuestos, principalmente, los flavonoles (Muñoz *et al.*, 2015).

Los compuestos fenólicos son moléculas que tienen uno o más grupos hidroxilo unidos a un anillo aromático. Si en el benceno se sustituye un hidrógeno por un hidroxilo se obtiene un fenol. Junto con las vitaminas, los compuestos fenólicos se consideran importantes antioxidantes en la dieta, por ejemplo, se encuentran presentes en frutas, hortalizas, raíces y cereales. Miles de compuestos fenólicos se encuentran en las plantas y se clasifican en diferentes tipos de grupos funcionales. Estas moléculas juegan una serie de funciones metabólicas en las plantas, en el crecimiento, reproducción y en la protección contra patógenos externos y el estrés, como la radiación UV y depredadores. Ellos son responsables del color y las características sensoriales de las plantas y alimentos, por ejemplo, la astringencia de frutas y hortalizas (Peñarrieta *et al.*, 2014; Martínez, 2002).

Existen dos grandes grupos de compuestos fenólicos: los ácidos fenólicos (benzoicos y cinámicos) y los flavonoides (flavonoles, antocianos y taninos). Las diferencias de estructura entre ambos grupos consisten principalmente, en que los ácidos fenólicos tienen un único anillo, mientras que los flavonoides están formados por dos anillos fenólicos unidos por una cadena de tres átomos de carbono (Martínez, 2002).



La concentración y estabilidad de estos compuestos está influenciada por diversos factores, incluidos los procesos de secado del material vegetal y las condiciones de almacenamiento de los extractos resultantes. Las altas temperaturas, utilizadas para secar el material vegetal y preparar extractos en solución, pueden conducir a una disminución del contenido de compuestos fenólicos (Yamassaki *et al.*, 2017).

La importancia de los fenoles radica en que producen soporte mecánico a las plantas, contribuyen en la coloración de las flores y frutos; protegen contra patógenos, herbívoros y tienen una gran efectividad protegiendo los tejidos frente a la radiación ultravioleta; además, estos compuestos presentan propiedades relacionadas con la salud humana, debido a su actividad antioxidante (Pérez *et al.*, 2014).

Existen varios reportes en frutas en los que se ha investigado la actividad antioxidante de las mismas por diferentes métodos, uno de ellos es mediante la determinación de fenoles. Estos se sintetizan como metabolitos secundarios con funciones de defensa, y son en gran medida responsables de las propiedades de color, astringencia, sabor y aroma de los vegetales (Restrepo *et al.*, 2009; Thaipong *et al.*, 2006).

### **2.2.1. Polifenoles**

Los polifenoles, taninos, antocianos y sus combinaciones son los responsables del color y el soporte de las características sensoriales del vino. Los vinos tintos son vinos de maceración, durante esta etapa es cuando se deben ajustar las

proporciones relativas de antocianos y taninos, a fin de obtener una buena evolución del contenido polifenólico en el curso de la crianza (Casassa *et al.*, 2005).

La estabilidad de los extractos ricos en polifenoles está influenciada por las condiciones de almacenamiento, como la temperatura, tiempo de almacenamiento, pH y disolvente utilizado (Yamassaki *et al.*, 2017).

### **2.3. Metabolitos secundarios**

Las rutas metabólicas básicas constituyen los orígenes del metabolismo secundario de las plantas, dando lugar a una variada serie de compuestos, algunos de estos son responsables de olores, colores de los vegetales, otros son responsables de virtudes culinarias, medicinales o venenosas. Los metabolitos secundarios se acumulan en grandes cantidades en las células vegetales o pueden ser expulsados fuera de éstas. Son compuestos derivados del metabolismo primario, pero de limitada distribución en el reino de las plantas, restringidos a un grupo taxonómico particular poseen altos rendimientos y que tienen múltiples funciones en las plantas, tienen una implicación ecológica como defensa contra herbívoros, virus, hongos y bacterias. Otros tienen una función fisiológica, por ejemplo, los alcaloides, las pectinas que pueden servir para el transporte de nitrógeno tóxico y compuestos de almacenamiento, mientras los compuestos fenólicos como los flavonoides realizan una función como protectores de rayos ultravioletas. Además, son una fuente importante de principios activos de medicamentos y de valiosos productos químicos (Shilpa *et al.*, 2010).

## **2.4. Saponinas**

Las saponinas son consideradas como parte del sistema de defensa de las plantas contra patógenos y herbívoros, especialmente por su sabor amargo. A pesar de que las saponinas han sido consideradas como un grave factor antinutricional debido a su actividad hemolítica, que ha contribuido a una larga controversia sobre sus funciones en los alimentos, en los últimos años, su actividad biológica ha sido asociada con diversos beneficios para la salud. Entre ellos, se incluyen efectos antiinflamatorios, anticancerígenos, antifúngicos y antivirales (Tomás et al., 2010).

La producción de estos compuestos en las plantas es compleja y las concentraciones de los principios activos pueden ser muy variables, dependiendo de la variedad de la planta, condiciones de cultivo, época del año y método de recolección. Además, el método de extracción de estos compuestos y el almacenamiento hasta su uso son complicados. Por todo lo anterior hasta ahora hay mucha variabilidad con respecto a su uso (Rojas et al., 2015).

## **2.5. Color**

El color es una respuesta mental al estímulo producido en la retina por una radiación luminosa visible. El estímulo cromático está caracterizado por la colorimetría triestímulo, el tono, la luminosidad y la saturación. El tono o matiz, se refiere a aquella característica que permite clasificar al color como rojo, amarillo, verde o azul, y es por tanto un atributo cualitativo de color. El color que exhiben las frutas se atribuye a la presencia de pigmentos como carotenoides,

antocianinas y clorofilas, entre otros, los cuales les confieren las tonalidades amarillas, anaranjadas, rojizas, violetas o verdes características (González, 2010).

El CIE (Comisión Internacional de Iluminación)  $L^*a^*b^*$  (CIELAB) es el modelo cromático usado normalmente para describir todos los colores que puede percibir el ojo humano. Los asteriscos (\*) que siguen a cada letra forman parte del nombre, ya que representan  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ , de  $L$ ,  $a$  y  $b$  (Molina, 2010).

La luminosidad o brillo  $L^*$ , permite clasificar el color como claro u oscuro. Lo cual, que se define como la característica de una sensación que la hace equivalente a la producida por algún elemento de la escala de grises que va desde el blanco (máxima luminosidad, igual a 100) hasta el negro (mínima luminosidad, igual a 0) haciendo un elemento más claro u oscuro. Esta característica es una medida relativa de la luz reflejada frente a la absorbida, por lo tanto, no se considera como participe la de cromaticidad (González, 2010).

En el caso de  $a^*$  es una coordenada cromática que va de  $+a^*$  (positivo) que indica rojo a  $-a^*$  (negativo) que indica verde. Los valores máximos que puede obtener  $a^*$  son de 60 positivo, pasando por 0, hasta 60 negativo que sería verde. Para el caso de  $b^*$  es una coordenada cromática que va desde  $+b^*$  (positivo) que indica amarillo a  $-b^*$  (negativo), que indica azul. De igual forma que  $a^*$ ,  $b^*$  puede tener valores desde 60 hasta -60 (González, 2010).

La saturación o pureza, descritas por los valores  $c^*$  (croma) y  $h$  (tono o hue), describen el grado o la intensidad con la que un color se separa del gris neutro

y se acerca a un color puro del espectro, describiendo la reflexión o transmisión de una determinada longitud de onda; es considerado el atributo cuantitativo de la cromacidad. El croma va de 0 a 100 y el hue de 0 a 360°. El valor de h es el ángulo del tono y se expresa en grados (Molina, 2010).

## **2.6. Métodos de extracción de compuestos fenólicos**

### **2.6.1. Extracción con agua**

#### **2.6.1.1. Infusión**

Operación que consiste en poner a calentar un disolvente (agua, vino o vinagre); y una vez que éste se encuentra caliente, se verta sobre una especie vegetal para obtener sus principios medicinales, o bien, colocar la especie vegetal en el disolvente, para dejar reposar para su posterior uso. Se aplica generalmente a aquellas plantas cuyos principios activos podrían alterarse por ebullición (González, 2004).

#### **2.6.1.2. Destilación por arrastre con vapor de agua**

La destilación por arrastre con vapor que se emplea para extraer la mayoría de los aceites esenciales es una destilación de la mezcla de dos líquidos inmiscibles y consiste en una vaporización a temperaturas inferiores a las de ebullición de cada uno de los componentes volátiles. Lo cual, se consigue por efecto de una corriente directa de vapor de agua, el cual ejerce la doble función de calentar la mezcla hasta su punto de ebullición y adicionar tensión de vapor a la de los componentes volátiles del aceite esencial. Los vapores que salen de la cámara extractora se enfrían en un condensador donde regresan a la fase

líquida. Los dos productos inmiscibles, agua y aceite finalmente, se separan en un dispositivo decantador o vaso florentino (Albarracín y Gallo, 2003).

### **2.6.1.3. Decocción**

Consiste en hervir en agua sustancias con principios medicinales durante unos minutos para extraer los principios solubles que contiene. Es también conocida como tisana (González, 2004).

## **2.6.2. Extracción con solventes orgánicos**

### **2.6.2.1. Maceración**

Es una extracción que se realiza a temperatura ambiente. Consiste en remojar el material vegetal, debidamente fragmentado en un solvente (agua o etanol), se prefiere el etanol puesto que a largos tiempos de extracción el agua puede propiciar la fermentación o la formación de mohos. El solvente debe disolver las porciones solubles. Se puede utilizar cualquier recipiente con tapa que no sea atacado con el disolvente; en éste se colocan el material vegetal con el disolvente y tapado se deja en reposo por un período de 2 a 14 días con agitación esporádica. Luego se filtra el líquido, se exprime el residuo, se recupera el solvente en un evaporador rotatorio y se obtiene el extracto (González, 2004).

La maceración es un proceso fisicoquímico complejo, durante el cual se extraen principalmente compuestos fenólicos, particularmente, antocianos y taninos, entre otras sustancias (aromáticas, nitrogenadas, polisacáridos y minerales entre otros) (Casassa *et al.*, 2005).

#### **2.6.2.2. Lixiviación o percolación**

Es uno de los procesos más difundidos pues se realiza con disolventes orgánicos en frío para preservar los compuestos termolábiles que pudiera contener el material. Consiste en colocar el material fragmentado en un embudo o recipiente cónico y hacer pasar un disolvente adecuado a través del mismo. No es apropiado para resinas o materiales que se hinchen dado que el disolvente no percolará. Se requiere agregar solvente constantemente (González, 2004; Carrión y García, 2010).

#### **2.6.2.3. Extracción Soxhlet**

Método en caliente, que se desarrolla empleando solventes con puntos de ebullición bajo, para evitar la degradación de la muestra. Resulta un método conveniente para obtener los extractos crudos de plantas (González, 2004).

#### **2.6.2.4. Digestión**

Es una maceración realizada a una temperatura que oscila alrededor de los 50 o 60 °C. Al aumentar medianamente la temperatura se consigue un mayor rendimiento de la extracción, puesto que disminuye la viscosidad del solvente lo que hace que éste pueda ingresar más rápidamente al interior de las células y así, extraer los principios activos (Carrión y García, 2010).

#### **2.6.2.5. Fluido supercrítico**

Un fluido supercrítico (FSC) es una sustancia que se encuentra en unas condiciones operativas de presión y temperatura superiores a las de su punto crítico. Este proceso es una operación que aprovecha el poder disolvente de

fluidos a temperaturas y presiones por encima de sus valores críticos (González, 2004).

## **2.7. Aguacate (*Persea americana* Mill.)**

### **2.7.1. Aspectos generales**

El aguacate es un árbol originario de Mesoamérica, su origen tuvo lugar en la parte centro de México y en algunas partes altas de Guatemala, donde ya se cultivaba con anterioridad a la llegada de los españoles. El nombre del aguacate proviene del náhuatl *Ahuacatl*, palabra que significa “testículos del árbol”. Su nombre científico es *Persea americana* y proviene de la familia Laurácea. Regularmente, este árbol puede alcanzar una altura de hasta 20 m, sin embargo, cuando se cultiva no se deja crecer más de 5 m, para facilitar las prácticas de control fitosanitario, cosecha, poda y fertilización foliar. Es de tronco grueso y con hojas alargadas que terminan en punta en la parte alta del tronco. Tiene varias ramificaciones, que generan un follaje denso. El aguacate es considerado un producto perenne debido a que se cultiva durante todo el año. El fruto es una drupa en forma de pera, de color verde claro a verde oscuro y de violeta a negro, con cáscara rugosa con una pulpa verde amarillenta y hueso central muy grande. Existen aproximadamente unas 400 variedades, por lo que se encuentran frutos de formas y pesos diferentes (150-350g) (Vega, 2012).

### **2.7.2. Requerimientos climáticos**

La temperatura para el cultivo del aguacate va de los 17 a 24 °C, siendo la temperatura ideal 20 °C, en la cual, alcanza su óptimo desarrollo.



El aguacate requiere regímenes pluviales de 1,000 a 2,000 mm de lluvia. Además, durante la época productiva, el riego localizado prolonga el periodo productivo, incrementando los rendimientos en alrededor del 30% y se mejoran las cualidades organolépticas de los frutos. Para sembrar el aguacate el suelo más recomendado son los de textura ligera y profunda bien drenada con un pH neutro o ligeramente ácido de 5.5 a 7.0. También, se pueden cultivar en suelos arcillosos o franco arcillosos, siempre que exista un buen drenaje. El exceso de humedad es un medio que provoca enfermedades de la raíz, así como padecimiento fisiológico y fúngico. El terreno destinado al cultivo debe contar con buena protección natural contra el viento, porque éste puede producir daños como: rotura de ramas, raíz y caída del fruto, especialmente, cuando están pequeños, además de reducir la humedad y que las flores se deshidraten e interfiere así, con la polinización (SAGARPA, 2011).

### **2.7.3. Variedades**

#### **2.7.3.1. Hass**

Es el más popular en el mercado internacional, cuando está maduro su cáscara adquiere un tono oscuro, casi negro, presenta una piel de verde oscuro a verde purpurino, tiene un gran sabor a nuez y avellana, con textura suave-cremosa y una semilla de pequeña a mediana. Está disponible durante todo el año. Esta variedad proviene de injerto, como mezcla de diferentes variedades de aguacate, desarrollado por Rudolph Hass (Vega, 2012; Bernal, 2015).

#### **2.7.3.2. Fuerte**

La cáscara de esta variedad es gruesa, comparada con otras especies, y no se oscurece con la maduración. Su piel es ligeramente áspera, con muchos pequeños puntos amarillos. Se encuentra desde finales de otoño, hasta primavera. Tienen forma de pera con gran sabor y pulpa cremosa (Vega, 2012; Bernal, 2015).

#### **2.7.3.3. Criollo**

Se caracteriza por tener una cáscara muy delgada y suave, que se aferra a la masa, además, un hueso muy grande. Su cáscara es oscura y su pulpa al madurar adopta un color amarillo-limón. Tiene entre sus principales características ser resistente al frío (SAGARPA, 2011; Bernal, 2015).

#### **2.7.3.4. Bacón**

La fruta está disponible durante otoño hasta primavera y es de forma ovalada, pulpa amarilla verdosa y con gran sabor y textura suave. Es fácil de pelar y contiene un hueso mediano a grande. Al madurar, la piel de éste fruto toma un tono más oscuro (Vega, 2012; Aproare, 2009).

#### **2.7.3.5. Pinkerton**

El fruto es redondo y con cuello en forma de pera de tamaño medio. Se trata de una fruta de apariencia larga y pulpa cremosa con excelente sabor. Tiene una cáscara más gruesa que las diferentes variedades de aguacate, además es muy fácil de pelar. Se encuentra desde de invierno hasta primavera (Aproare, 2009).

#### **2.7.3.6. *Gwen***

Se encuentra desde principios de primavera, hasta finales de verano. Es una fruta redonda, de piel delgada y granulada de color verde. La textura de la pulpa es suave y cremosa (SAGARPA, 2011).

#### **2.7.3.7. *Reed***

Esta variedad está disponible en verano e inicios de otoño. Su piel permanece gruesa y verde, tiene buen sabor y presenta una suave presión cuando está madura. Es fácil de pelar y contiene una semilla mediana (Aproare, 2009).

#### **2.7.4. Producción en México**

En México la producción de aguacate ha crecido de manera importante en los últimos años, entre 2002 y 2015 la tasa de crecimiento promedio anual fue de 4.2%, mientras que entre 2011 y 2015, el crecimiento promedio fue del 8.7% (SIAP, 2016).

La producción nacional de aguacate, a diciembre de 2017, fue de un millón 997 mil toneladas; 6% por arriba que la cosechada en el mes similar del año previo. Este aumento superior a las 119 mil toneladas deriva de una mayor superficie cosechada y al control de las plagas que afectan al fruto, lo que favorece un mayor rendimiento. El mayor productor de aguacate es Michoacán con 160 mil hectáreas destinadas a este cultivo. Esta entidad federativa genera poco más de millón y medio de toneladas, que representan 77% de la producción nacional. Le siguen en importancia productiva los estados de Jalisco y México, que juntos aportan casi 15% de la producción total (273 mil t) (SIAP, 2017).

### **2.7.5. El aguacate como alimento funcional**

Actualmente se reconoce como “alimento funcional”, además de ser una fuente de energía y vitaminas, se considera como alimento funcional aquel ya sea fresco o procesado que tiene propiedades promotoras de la salud o preventivas de enfermedades más allá de sus funciones básicas de aportar nutrimentos (Sanginés, 2008).

La pulpa de aguacate contiene antioxidantes, como la vitamina E o tocoferoles, así como glutathione, los cuales actúan como estabilizador de las membranas celulares y neutralizan los radicales libres causantes del estrés oxidativo celular (envejecimiento, enfermedades degenerativas, cáncer) (Calderón, 2006).

De las hojas del aguacatero, de la pulpa, piel y semillas de sus frutos se han aislado algunos metabolitos secundarios con potente actividad insecticida y fungicida, tal es el caso de varias acetogeninas como la persina e isopersina y de algunos furanos monoalquilados con restos alquilo de cadena larga como los avocado-furanos (Sanginés, 2008).

Así mismo se piensa que el extracto de hojas de aguacate posee propiedades anticonvulsiantes, además de incrementar el catabolismo de los lípidos acumulados en el tejido adiposo causando una disminución del peso corporal, sin influir en los niveles de lípidos en el hígado de las ratas (Brai et al 2007).

## **2.8. Guayaba (*Psidium guajava* L.)**

### **2.8.1. Características generales**

El guayabo (*Psidium guajava* L.) es un arbusto de 3 a 10 m de altura, con tronco corto y ramas cerca de la superficie del suelo. Los frutos son de color

amarillo verdoso en su exterior o de color amarillo claro en su plena madurez, de 5 a 12 cm de largo y de 5 a 7 de ancho y un peso de 25 a 250 g. Presenta una consistencia jugosa y crocante con sabor dulce (González *et al.*, 2001; Casaca, 2005).

### **2.8.2. Requerimientos climáticos**

Su precipitación óptima oscila entre los 1000 y los 3800 mm de lluvia anual. Lo cual, le permite como fruta tropical, producir todo el año; y por lo que se recomienda el riego en la época seca. Se produce desde los 0 msnm hasta los 1100 msnm. Las temperaturas recomendadas para buenas producciones oscilan entre los 15.5 °C a 34 °C (Cruz, 2007; Casaca, 2005).

Para la obtención de fruta de calidad se prefieren suelos fértiles, profundos, ricos en materia orgánica y bien drenados. A pesar de que el guayabo se produce en casi cualquier tipo de suelo, los ideales son aquellos con pH entre 6 y 7, aunque se conoce de cultivos en pH de 4.5 hasta 8.2 (Cruz, 2007).

### **2.8.3. Variedades**

#### **2.8.3.1. Caxcana**

Fruto de forma redonda con pulpa blanca de 75 – 95 g y de 4.8 a 5.5 cm de diámetro ecuatorial con 8 – 9 mm de grosor de casco con 11 – 13 °Brix. Esta variedad por su color de pulpa representa una alternativa para la diversificación de los nichos de mercado para consumo en fresco o para la agroindustria (Zeledon y Wan, 1994; Castillo, 2016).

#### **2.8.3.2. Merita**

Pulpa crema obtenida, fruto de forma ovoide, de 60 – 80 g, de 4.5 – 5.0 cm de diámetro ecuatorial, 7 – 8 mm de grosor de casco y 12 – 14°Brix. Esta variedad tiene una gran aceptación por los consumidores, dado su aroma, sabor y consistencia (Zeledon y Wan, 1994; Castillo, 2016).

#### **2.8.3.3. Calvillo siglo XXI**

Pulpa crema, forma del fruto ovoide de 60 a 80 g, de 4.5 – 5.0 cm diámetro ecuatorial con 6-8 mm grosor de casco y 12- 14 °Brix. Son frutos que tienen una gran aceptación para consumo en fresco o bien para la agroindustria (Zeledon y Wan, 1994; SIAP, 2016).

#### **2.8.3.4. Huejucar**

Pulpa jaspeada rosa pálido-crema de fruto ovoide de 80 – 100 g, de 4.8 – 5.5 cm de diámetro ecuatorial y 7 – 8 mm de grosor de pulpa con 12 – 14 °Brix. Esta variedad por su color de pulpa representa una alternativa para la diversificación de los nichos de mercado para consumo en fresco o para la agroindustria (Zeledon y Wan, 1994; SIAP, 2016).

#### **2.8.3.5. Hicrozac**

De pulpa color rosa, fruto de forma truncada-aperada de 90-110 g, con 5.0 – 5.5 cm diámetro ecuatorial y 10 -12 mm de grosor de pulpa con 11 – 13 °Brix (Zeledon y Wan, 1994; Castillo, 2016).

#### **2.8.4. Producción Nacional**

La producción Nacional de esta fruta en 2016 fue cercana a las 311 mil t. Michoacán contribuyó con 47.7% del total, seguido por Aguascalientes con 30.5%. Cifras preliminares de 2016 indican que Michoacán se mantuvo como el estado líder productor de guayaba, con una producción de 148.3 mil toneladas, obtenidas en más de 10,200 hectáreas cosechadas. Dicho volumen fue 8.3% superior a lo alcanzado en 2015 (SIAP, 2016).

La Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA) informó que, en los últimos tres años, la producción de guayaba en México aumentó en 8.2 por ciento. Lo que permite consolidar al país como el quinto productor mundial de este fruto (SAGARPA, 2017).

#### **2.8.5. La guayaba como alimento funcional**

Las hojas jóvenes de guayaba son la fuente principal de compuestos fenólicos, porque los sintetizan como defensa contra predadores herbívoros que las prefieren por su mayor calidad nutricional respecto a las hojas maduras. Sin embargo, eso no siempre ocurre porque no todos los metabolitos tienen el mismo comportamiento durante el desarrollo foliar. Por ejemplo, los flavonoles aumentan conforme avanza el desarrollo de la hoja. Probablemente las hojas maduras sean más importantes para las plantas porque proveen carbohidratos a las estructuras reproductoras y a los ápices de raíz y tallos (Vargas, 2006).

### **III. OBJETIVOS**

#### **3.1. Objetivo general**

- Determinar el tiempo ideal de maceración para obtener la mayor cantidad de fenoles totales en extractos hidroalcohólicos de hojas de guayaba (*Psidium guajava* L.) y hojas de aguacate (*Persea americana* Mill.).

#### **3.2. Objetivos específicos**

- Evaluar diferentes tiempos de maceración (1, 3, 7, 14, 30, 60 y 90 días) para obtener la mayor cantidad de fenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu en extractos hidroalcohólicos de hojas de guayaba (*Psidium guajava* L.) y de hojas de aguacate (*Persea americana* Mill.).
- Evaluar diferentes tiempos de maceración (1, 3, 7, 14, 30, 60 y 90 días) de extracto hidroalcohólico para obtener la mayor cantidad de fenoles totales en hojas de guayaba (*Psidium guajava* L.) y hojas de aguacate (*Persea americana* Mill.) por el método fenoles por solventes.
- Evaluar diferentes tiempos de maceración (1, 3, 7, 14, 30, 60 y 90 días) de extracto hidroalcohólico para obtener la mayor cantidad de saponinas en hojas de guayaba (*Psidium guajava* L.) y hojas de aguacate (*Persea americana* Mill.).



- Evaluar diferentes tiempos de maceración (1, 3, 7, 14, 30, 60 y 90 días) de extracto hidroalcohólico para obtener la mayor cantidad de pH en hojas de guayaba (*Psidium guajava* L.) y hojas de aguacate (*Persea americana* Mill.).
- Evaluar diferentes tiempos de maceración (1, 3, 7, 14, 30, 60 y 90 días) de extracto hidroalcohólico para obtener la mayor cantidad de color en sus variables L\*, a\*, b\*, c\* y h en hojas de guayaba (*Psidium guajava* L.) y hojas de aguacate (*Persea americana* Mill.).

#### **IV. HIPÓTESIS**

Se obtiene la mayor cantidad de fenoles totales en extractos hidroalcohólicos en los primeros tres días de maceración, sin verse modificado a través del tiempo.

## **V. JUSTIFICACIÓN**

El obtener extractos de plantas y estudiar sus partes activas permite conocer aún más los recursos naturales con que se cuenta y así, darles un mejor aprovechamiento. Lo cual les proporciona un mayor valor agregado al comercializarlas como productos puros o como extractos.

México se encuentra en primer lugar en cuanto a producción de aguacate y en quinto en producción de guayaba. Las hojas no se utilizan como composta por lo cual, se convierten en residuos.

El problema al que se enfrentan estos residuos agrícolas es que no existe una clara conciencia ambiental para su manejo. Además de que falta capacidad tecnológica y recursos económicos para darles un destino final por lo cual, se requiere utilizarlos para aprovecharlos y generar un producto de valor comercial.

Si a las hojas de estos cultivos se les da un uso adecuado se pueden obtener productos que se pueden aprovechar en la industria alimentaria, así, al mismo tiempo se pretende contribuir a la reducción de los impactos negativos con el medio ambiente al ser manejados como desecho.

Además, se pretende determinar el tiempo ideal de maceración, para ver en qué día hay mayor concentración de fenoles y poder utilizarlos en ese momento.

## **VI. MATERIALES Y MÉTODOS**

La fase experimental del trabajo de investigación se llevó a cabo en el laboratorio de Calidad de Productos Agropecuarios de la Facultad de Ciencias Agrícolas de la Universidad Autónoma del Estado de México. Campus Universitario “El Cerrillo”, El Cerrillo Piedras Blancas.

Se realizó con material vegetal en hojas de guayaba (*Psidium guajava* L.) de Susupuato, Michoacán (19°13' latitud norte, 100°24' longitud oeste, 1240 msnm) y aguacate (*Persea americana* Mill.) de Zitácuaro, Michoacán (19°26' latitud norte, 100°22' longitud oeste, 1942 msnm).

### Diseño experimental

Se realizó un diseño experimental bifactorial completamente al azar donde el primer factor son los días de maceración (1, 3, 7, 14, 30, 60 y 90) y el segundo factor son las especies vegetales (aguacate y guayaba).

#### **6.1. Recolección de hojas**

El material vegetativo se obtuvo de árboles jóvenes y sanos. Se evitaron las hojas con daño mecánico o biológico. Se recolectaron en verano, tomando las muestras de la parte central del árbol (Salem *et al.*, 2011; Isaza *et al.*, 2015).

#### **6.2. Lavado de hojas**

Las hojas se lavaron en un bote que contenía hipoclorito al 1%, dejándolo reposar media hora. Se enjuagaron y se dejaron a temperatura ambiente, dispersas sobre un cartón (Salem *et al.*, 2011; Isaza *et al.*, 2015).

### **6.3. Secado de las hojas**

El material vegetal se colocó sobre las parrillas de la incubadora (Felisa) modelo F313A a una temperatura de 50 °C durante 48 h (Isaza *et al.*, 2015).

### **6.4. Molienda**

Se realizó en un molino eléctrico (General electric) modelo 5XB6006, con una criba de 20 micras hasta pulverizar perfectamente la planta (Salem *et al.*, 2011; Isaza *et al.*, 2015).

### **6.5. Preparación de los extractos**

Se utilizó una parte de planta por ocho de solvente (etanol). Posteriormente los extractos se colocaron en frascos ambar y se dejaron macerar en un lugar oscuro. Después se tomaron muestras de acuerdo al tiempo y fueron colocadas a baño María (Stable temp) de Cole Parmer a 39 °C durante 30 min, se filtraron (filtros whatman circular 240 mm), se midieron los mL de extracto en una probeta y se almacenaron en refrigeración hasta su uso (Isaza *et al.*, 2015).

### **6.6. Determinación de fenoles totales**

#### **6.6.1. Determinación de fenoles por el método de Folin-Ciocalteu**

Se determinó mediante el método colorimétrico de Folin-Ciocalteu de acuerdo a (Gutierrez *et al.*, 2008) con algunas modificaciones.

Se realizó una curva patrón, donde se pesaron en una balanza de laboratorio (Sartorius), 1.5 g de carbonato de sodio, aforando a 10 mL de agua destilada y 0.0025 g de ácido gálico, aforado a 25 mL de agua destilada; posteriormente, se llevó al equipo de agitación (Vortex Genie 2) por 3 min (Isaza *et al.*, 2015).

En tubos eppendorf se colocó 1 mL de agua destilada con 10  $\mu$ L de extracto de planta, se agitó cada muestra durante 1 min y finalmente, se tomaron viales limpios donde posteriormente con micropipetas se colocó el siguiente orden:

- 75  $\mu$ L Reactivo Folín
- 120  $\mu$ L muestra colocada en Tubos eppendorf
- 1005  $\mu$ L agua destilada
- 300  $\mu$ L carbonato de sodio 0.1%

Se dejaron reposar las muestras 2 h. Pasadas las 2 h se colocó cada muestra en un espectrofotómetro Thermo Scientific Genesys 10S Uv/visible a 760 nm.

#### **6.6.2. Determinación de fenoles y saponinas por solventes**

Se siguió la metodología de Arizmendi et al., 2015. Se colocaron las cajas Petri a peso constante en General Incubador (LUZEREN DPH9082) a 50° C durante 1 h, se pesaron y registraron dichos pesos para proceder con:

- En un embudo de separación (KIMAX KIMBLE) con capacidad de 250 mL. Se colocaron 10 mL de acetato de etilo, 10 mL de la muestra y 10 mL agua destilada, agitando durante 1 min y se dejó reposar 30 min, para formar dos fases.
- En un vaso de precipitado se recuperó la fase inferior que contiene a las saponinas, mientras que la fase superior (fase orgánica), contiene los fenoles totales que se colocaron en una de las cajas Petri a peso constante.

- Nuevamente, se colocó el contenido del vaso de precipitado en el embudo de separación y se agregaron 10 mL de N-butanol. Se agitó 1 min y se dejó reposar 30 min.
- La fase inferior, es la fase acuosa. Se recuperó la fase superior (saponinas) en otra caja Petri a peso contante y se dejó secar en la campana de flujo laminar 1 día hasta estar completamente secas.
- Finalmente, se calculó la concentración de fenoles totales y saponinas, restando a los pesos finales los pesos iniciales de cada fase.

### **6.7. Determinación de pH**

Se siguió la técnica de Salinas *et al.*, 2012.

1. Se calibro el potenciómetro (Thermo Scientific Orion Star A215).
2. En vasos de precipitado se agregaron los extractos hidrolalcohólicos.
3. Se colocó el electrodo dentro de los extractos y se anotaron las lecturas de pH. La prueba se realizó por duplicado, tomando dos lecturas en cada repetición.

### **6.8. Determinación de color**

La metodología se basó en la de Salinas *et al.*, 2012.

- Se agregaron 15 mL de los extractos en cajas Petri que se pusieron sobre un fondo blanco.
- Se calibro el medidor de colorimetría (C-R 400 Konica Minolta).
- Se puso el colorímetro sobre la caja y se llevó a cabo una lectura por duplicado.

## VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Una vez realizados los análisis de laboratorio se analizaron los resultados para las variables respuesta de fenoles por el método de Folin-Ciocalteu, de fenoles por solventes, de saponinas, de pH y de color ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $c^*$  y  $h$ ) por medio de un Multi ANOVA  $p \leq 0.05$  para especie (aguacate y guayaba), para tiempo (1, 3, 7, 14, 30, 60 y 90 días) y la interacción de ambas. Así también se realizó una regresión lineal para fenoles por el método de Folin-Ciocalteu, fenoles por solventes y saponinas, y su relación con el tiempo de maceración.

### 7.1. Determinación de fenoles por el método de Folin-Ciocalteu

Los resultados indicaron que existieron diferencias significativas para tiempo y para interacción y no existieron para especie.

Al encontrar diferencias significativas para tiempo y para interacción se procedió a aplicar una prueba de comparación de medias de DMS ( $p \leq 0.05$ ), lo que se ve en el Cuadro 1.



Cuadro 1. Resultados de las medias de los tratamientos para fenoles por Folin-Ciocalteu, fenoles por solventes, concentración de saponinas, pH y color (L\*, a\*, b\*, c\*, y h) para especie (aguacate y guayaba), para tiempo (1, 3, 7, 14, 30, 60 días).

Variables	Fenoles por Folin-Ciocalteu (mg GAE g <sup>-1</sup> )	Fenoles por solventes (mg g <sup>-1</sup> )	Saponinas (mg g <sup>-1</sup> )	pH	Color L*	Color a*	Color b*	Color c*	Color h
Tiempo (días)	$\bar{x} \pm DS$	$\bar{x} \pm DS$	$\bar{x} \pm DS$	$\bar{x} \pm DS$	$\bar{x} \pm DS$	$\bar{x} \pm DS$	$\bar{x} \pm DS$	$\bar{x} \pm DS$	$\bar{x} \pm DS$
1	11.90 ± 8.76a	13.00 ± 1.70a	15.06 ± 0.83a	6.35 ± 0.18c	41.22 ± 3.67c	0.53 ± 2.79a	10.60 ± 2.77b	10.93 ± 2.66b	87.05 ± 15.46b
3	13.35 ± 33.72a	14.83 ± 16.02a	17.81 ± 24.50a	6.33 ± 0.22c	40.04 ± 4.69c	0.64 ± 2.55a	10.29 ± 3.46b	10.59 ± 3.12b	86.64 ± 23.18b
7	22.13 ± 33.82b	16.86 ± 15.93a	21.55 ± 24.35a	6.30 ± 0.19c	38.51 ± 5.07c	1.09 ± 2.27a	10.31 ± 3.52b	10.63 ± 3.15b	82.67 ± 23.81b
14	33.52 ± 9.94b	27.53 ± 3.30b	27.60 ± 7.80a	6.27 ± 0.18b	35.29 ± 1.93b	2.64 ± 1.80a	8.10 ± 2.30b	8.73 ± 2.06b	70.63 ± 13.76b
30	59.44 ± 34.21c	32.43 ± 15.62b	51.56 ± 23.08b	6.19 ± 0.17b	33.52 ± 4.97a	3.10 ± 2.00a	4.53 ± 3.65a	5.56 ± 3.20a	54.94 ± 23.83a
60	79.22 ± 39.00d	37.06 ± 15.99b	69.43 ± 26.34c	6.05 ± 0.18a	32.41 ± 5.06a	2.71 ± 1.87a	2.35 ± 3.87a	3.59 ± 3.46a	41.36 ± 24.56a
90	112.75 ± 8.72e	54.81 ± 14.36c	76.38 ± 6.74c	6.00 ± 0.14a	32.07 ± 1.20a	2.38 ± 1.23a	1.97 ± 0.92a	2.92 ± 1.74a	41.01 ± 4.93a
Especie									
Aguacate (1)	45.49 ± 32.80a	29.33 ± 15.84a	39.54 ± 24.90a	6.25 ± 0.24a	34.51 ± 2.74a	2.83 ± 2.05b	6.75 ± 4.19a	7.73 ± 3.89a	60.07 ± 20.06a
Guayaba (2)	49.46 ± 44.48a	26.81 ± 14.49a	40.29 ± 26.07a	6.18 ± 0.17a	37.80 ± 5.06b	0.91 ± 1.58a	7.00 ± 3.99a	7.40 ± 3.66a	72.59 ± 22.87b
Tiempo/especie									
1,1	16.61 ± 11.13a	14.53 ± 0.41a	14.73 ± 1.10a	6.34 ± 0.28a	38.44 ± 3.10c	1.86 ± 3.76b	12.36 ± 2.95d	13.00 ± 1.95c	79.30 ± 20.39b
1,2	7.20 ± 1.32a	11.46 ± 0.05a	15.40 ± 0.45a	6.36 ± 0.06a	44.01 ± 0.94d	-0.79 ± 0.16a	8.84 ± 1.07c	8.86 ± 1.05b	94.81 ± 1.32b
2,1	17.61 ± 5.71a	15.66 ± 0.32a	19.93 ± 5.60a	6.44 ± 0.23a	36.89 ± 2.21b	2.00 ± 2.84b	11.19 ± 3.26d	11.74 ± 2.32c	78.82 ± 20.76b
2,2	9.10 ± 5.10a	14.00 ± 1.95a	15.70 ± 0.79a	6.22 ± 0.10a	43.19 ± 0.19d	-0.71 ± 0.53a	9.39 ± 0.39c	9.43 ± 0.37b	94.46 ± 3.23b
3,1	27.98 ± 18.23a	16.70 ± 0.3a	22.06 ± 1.40a	6.39 ± 0.21a	34.95 ± 1.69b	2.69 ± 2.52c	8.40 ± 1.76c	9.02 ± 2.03b	72.85 ± 13.94b
3,2	16.28 ± 4.16a	17.03 ± 3.25a	21.03 ± 0.92a	6.21 ± 0.09a	42.08 ± 1.54d	-0.50 ± 0.65a	12.22 ± 0.74d	12.24 ± 0.70c	92.48 ± 3.34b
4,1	33.83 ± 11.45a	30.43 ± 0.97b	22.13 ± 7.76a	6.35 ± 0.19a	33.85 ± 1.49b	3.55 ± 1.94c	6.29 ± 1.77b	7.35 ± 2.06b	60.88 ± 11.82a
4,2	33.21 ± 10.76a	24.63 ± 1.10b	33.06 ± 1.56a	6.19 ± 0.16a	36.74 ± 0.96b	1.74 ± 1.37b	9.92 ± 0.49c	10.12 ± 0.75c	80.38 ± 6.95b
5,1	52.99 ± 13.58b	30.50 ± 0.26b	53.00 ± 1.3b	6.23 ± 0.19a	32.87 ± 1.29a	3.39 ± 1.35c	3.97 ± 1.37b	5.26 ± 1.81a	49.90 ± 6.79a
5,2	65.88 ± 8.45b	34.36 ± 2.74c	50.13 ± 3.18b	6.15 ± 0.19a	34.17 ± 1.59b	2.82 ± 0.30c	5.09 ± 1.31b	5.87 ± 0.98a	59.99 ± 9.53a
6,1	59.46 ± 10.88b	35.83 ± 2.66c	68.43 ± 2.80b	6.02 ± 0.18a	32.57 ± 0.86a	3.26 ± 1.53c	2.58 ± 1.03a	4.16 ± 1.82a	39.46 ± 4.90a
6,2	98.98 ± 15.38c	38.30 ± 3.81c	70.43 ± 29.37b	6.07 ± 0.27a	32.25 ± 1.71a	2.16 ± 0.82b	2.12 ± 1.01a	3.03 ± 1.29a	43.26 ± 4.13a
7,1	109.92 ± 5.20c	61.70 ± 3.84d	76.50 ± 10.60b	5.98 ± 0.17a	31.98 ± 1.12a	3.09 ± 1.26c	2.50 ± 1.01a	3.62 ± 2.29a	39.27 ± 2.10a
7,2	115.58 ± 11.80c	47.93 ± 18.95d	76.26 ± 1.10b	6.03 ± 0.15a	32.16 ± 1.52a	1.68 ± 0.84b	1.45 ± 0.50a	2.22 ± 0.95a	42.76 ± 6.88a

Letras iguales indican que no hay diferencias significativas entre las medias ( $p \leq 0.05$ ).  $\bar{x}$  = Media. DS = Desviación estándar.

Para la variable *tiempo* se formaron 5 grupos estadísticamente diferentes ( $p \leq 0.05$ ). En el grupo uno y con media más baja estuvieron los tiempos 1 y 2 con 11.90 y 13.35 mg GAE g<sup>-1</sup>, respectivamente, en el grupo dos, estuvieron los tiempos 3 y 4 con 22.13 y 33.52 mg GAE g<sup>-1</sup>, respectivamente, en el grupo tres, estuvo el tiempo 5 con un valor de 59.44 mg GAE g<sup>-1</sup>. En el grupo cuatro, estuvo el tiempo 6 con valor de 79.22 mg GAE g<sup>-1</sup> y en el último grupo estuvo el tiempo 7 con un valor de 112.75 mg GAE g<sup>-1</sup>.

Para el caso de la variable *interacción* se formaron 3 grupos estadísticamente significativos ( $p \leq 0.05$ ). En el grupo uno y con media más baja estuvieron la interacción 1,2; 2,2; 3,2; 1,1; 2,1; 3,1; 4,2 y 4,1 con 7.2, 9.10, 16.28, 16.61, 17.61, 27.98, 33.21 y 33.83 mg GAE g<sup>-1</sup>, respectivamente, en el grupo dos, estuvieron la interacción 5,1; 6,1 y 5,2 con 52.99, 59.46 y 65.88 mg GAE g<sup>-1</sup>, respectivamente y en el grupo tres estuvieron la interacción 6,2; 7,1 y 7,2 con 98.98, 109.92 y 115.58 mg GAE g<sup>-1</sup>, respectivamente.

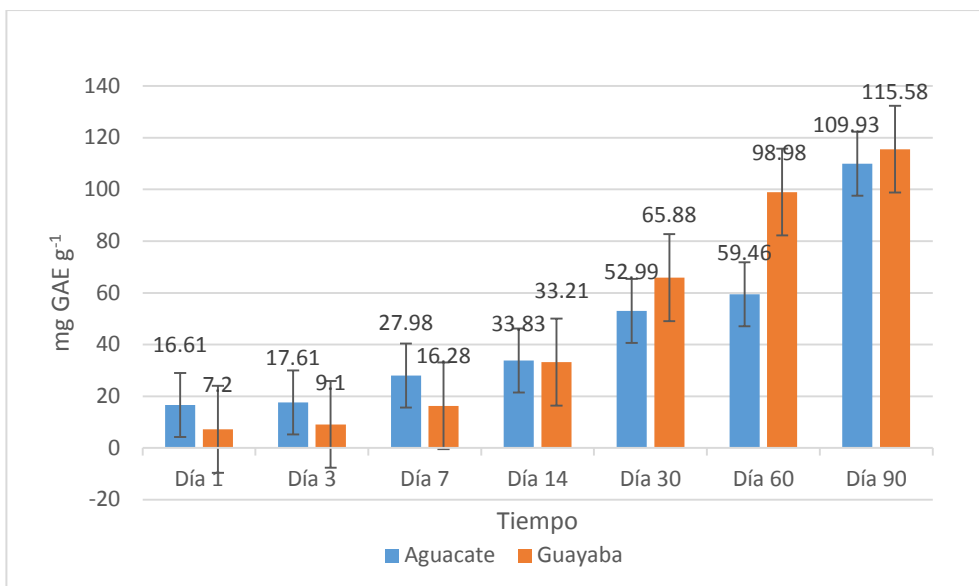
Para el caso de *especie*, no existieron diferencias significativas por lo que no hay comparación de medias.

Los resultados encontrados en esta investigación se encuentran en un rango entre 7.2 y 115.58 mg GAE g<sup>-1</sup>. Pérez *et al.*, 2014 indicaron en su experimento Determinación de fenoles y flavonoides totales en hojas de guayabo (*Psidium guajava* L.) que el valor obtenido fue de 90.71 mg GAE g<sup>-1</sup>, los valores de la presente investigación que están cercanos a este valor y que incluso lo pasan, corresponden a la interacción 6,2; 7,1 y 7,2.

Butsat y Siriamornpun, 2016 en su estudio effect of solvent types and extraction times on phenolic and flavonoid contents and antioxidant activity in leaf extracts of *Amomum chinense* C, utilizaron cuatro solventes de extracción (agua destilada, 80% de metanol, 80% de etanol y 80% de acetona) con varios tiempos de extracción (6h, 12h y 24h) a 37 ° C e indicaron que la mayor cantidad de compuestos fenólicos la obtuvieron con una concentración de 80% de metanol y un tiempo de 12 h.

Gorriti *et al.*, 2009 en su investigación determinaron la concentración de fenoles totales en corontas de maíz morado (*Zea mays* L.), utilizando etanol al 20% con diferentes temperaturas y tiempos. Las mejores condiciones de extracción de fenoles totales correspondieron a los tratamientos 15 y 16 (temperatura de 90 °C y tiempos de 120 y 240 min) con 76.962 y 76.945 mg GAE g<sup>-1</sup>.

En la Gráfica 1, puede verse como va aumentando la concentración de fenoles por el Método de Folin-Ciocalteu a través del tiempo desde 1 día hasta 90 para hojas de guayaba y de aguacate. Puede notarse como en un inicio la concentración en aguacate es mayor que la de guayaba y así continua hasta el día 14, en donde cambia siendo mayor la concentración para guayaba y continua así hasta llegar a los 90 días, a pesar que como ya se indicó en ambos casos continua un aumento en la extracción de los fenoles.



*Gráfica 1. Concentración de fenoles por el método de Folin-Ciocalteu de los extractos de hojas de aguacate y de guayaba a través del tiempo*

Los compuestos fenólicos se clasifican de acuerdo con su estructura química en ácidos fenólicos, flavonoides y taninos, compuestos que no fueron identificados en este trabajo de investigación y que se sugiere se realice en próximas investigaciones ya que cada uno tiene efectos diferentes en los alimentos.

Las hojas tanto de guayaba como de aguacate hasta ahora han sido usadas como materia orgánica para preparar compostas, sin embargo, debido a la alta concentración de fenoles que pudieran obtenerse como resultado de la presente investigación, se sugiere que podrían usarse de forma seca y molida, como ingrediente base en la preparación de otros alimentos como biopelículas activas y recubrimientos para aumentar la vida de anaquel de los productos cubiertos.

## 7.2. Determinación de fenoles por solventes.

Los resultados indicaron que existieron diferencias significativas para tiempo y para interacción y no existieron para especie. Al encontrar diferencias significativas para tiempo y para interacción se procedió a aplicar una prueba de comparación de medias de DMS ( $p \leq 0.05$ ), lo que se ve en el Cuadro 1.

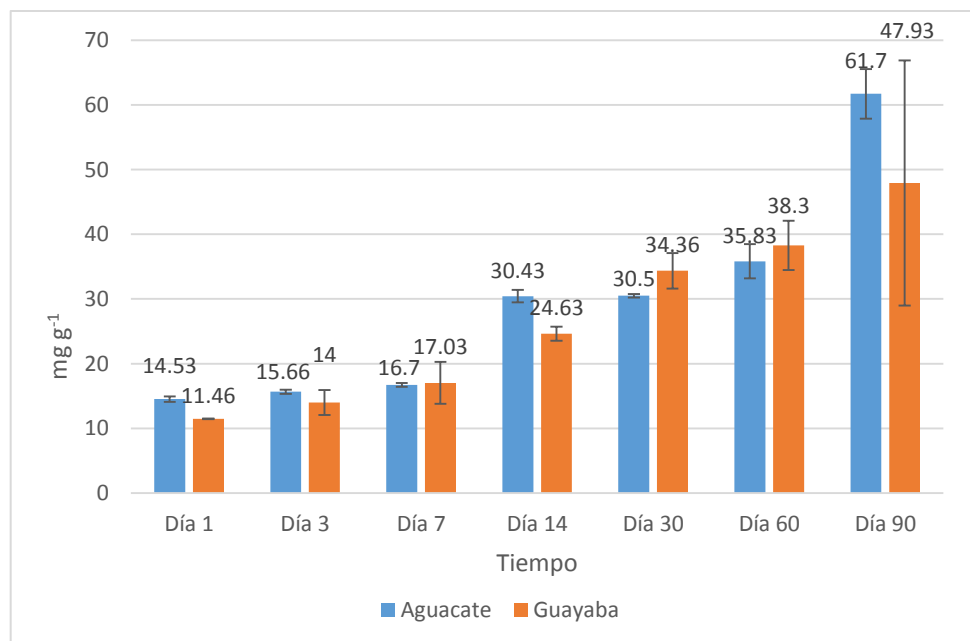
Para la variable tiempo, se formaron 3 grupos estadísticamente diferentes ( $p \leq 0.05$ ). En el grupo uno y con media más baja estuvieron el tiempo 1, 2 y 3 con 13.0, 14.83 y 16.86 mg g<sup>-1</sup>, respectivamente. En el grupo dos, se observaron los tiempos 4, 5 y 6 con 27.53, 32.43 y 37.06 mg g<sup>-1</sup> respectivamente y en el último grupo estuvo el tiempo 7 con 54.81 mg g<sup>-1</sup>.

Para el caso de la *interacción* se formaron 4 grupos estadísticamente significativos ( $p \leq 0.05$ ). En el grupo uno y con media más baja estuvieron las interacciones 1,2; 2,2; 1,1, 2,1; 3,1 y 3,2 con 11.46, 14, 14.53, 15.66, 16.7 y 17.03 mg g<sup>-1</sup>, respectivamente. En el grupo dos, se observaron a las interacciones 4,2; 4,1 y 5,1 con 24.63, 30.43 y 30.5 mg g<sup>-1</sup>, respectivamente. En el grupo tres estuvieron las interacciones 5,2; 6,1 y 6,2 con 34.36, 35.83 y 38.3 mg g<sup>-1</sup>, respectivamente, y en el último grupo estuvieron las interacciones 7,2 y 7,1 con un valor de 47.93 y 61.7 mg g<sup>-1</sup>, respectivamente.

Para el caso de *especie*, no existieron diferencias significativas por lo que no hay comparación de medias.

Los resultados encontrados en esta investigación se encuentran en un rango entre 11.46 y 61.7 mg g<sup>-1</sup>.

En la Gráfica 2, igual que en el método Folin-Ciocalteu, se ve como aumenta la concentración de fenoles por el método por solventes, en el transcurso del tiempo desde el día 1 hasta el día 90, para ambos extractos de las diferentes hojas. Sin embargo y contrario al método Folin-Ciocalteu, en este caso se obtuvo mayor cantidad de fenoles en hoja de aguacate en todo momento de la evaluación.



Gráfica 2. Concentración de fenoles por solventes de los extractos de hojas de aguacate y de guayaba a través del tiempo

### 7.3. Determinación de saponinas

Los resultados indicaron que existieron diferencias significativas para tiempo y para interacción y no existieron para especie.

Al encontrar diferencias significativas para tiempo y para interacción se procedió a aplicar una prueba de comparación de medias de DMS ( $p \leq 0.05$ ), lo que se ve en el Cuadro 1.

Para la variable *tiempo*, se formaron 3 grupos estadísticamente diferentes ( $p \leq 0.05$ ). En el grupo uno estuvieron los tiempos 1, 2, 3 y 4 con 15.06, 17.81, 21.55 y 27.6 mg g<sup>-1</sup>, respectivamente, en el grupo dos estuvo el tiempo 5 con un valor de 51.56 mg g<sup>-1</sup> y en el último grupo estuvieron los tiempos 6 y 7 con 69.43 y 76.38 mg g<sup>-1</sup>, respectivamente.

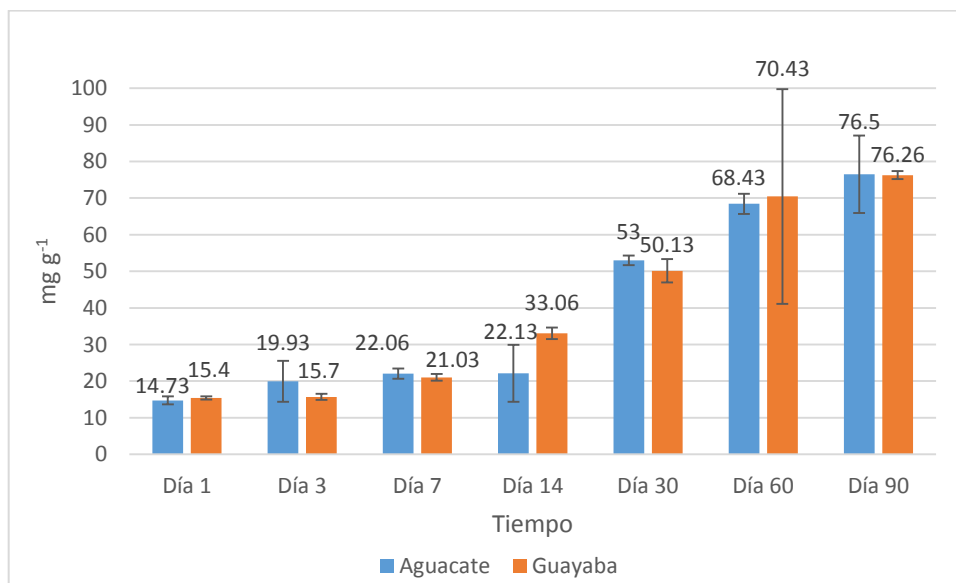
Para el caso de la variable *interacción* se formaron 2 grupos estadísticamente significativos ( $p \leq 0.05$ ). En el grupo uno y con media más baja estuvieron las interacciones 1,1; 1,2; 2,2; 2,1; 3,2; 3,1; 4,1 y 4,2 con 14.73, 15.4, 15.7, 19.93, 21.03, 22.06, 22.13 y 33.06 mg g<sup>-1</sup>, respectivamente, y en el grupo dos, se observaron a las interacciones 5,2; 5,1; 6,1; 6,2; 7,2 y 7,1 con 50.13, 53, 68.43, 70.43, 76.26 y 76.5 mg g<sup>-1</sup> respectivamente.

Para el caso de *especie*, no existieron diferencias significativas por lo que no hay comparación de medias.

Los resultados encontrados en ésta investigación se encuentran en un rango entre 14.73 y 76.5 mg g<sup>-1</sup>. Hernández *et al.*, 2005 en su estudio extracción y cuantificación indirecta de las saponinas de *Agave lechuguilla* Torrey, donde utilizaron etanol/agua (95/5), indicaron un valor de 10.013 mg g<sup>-1</sup> y está muy por debajo de los valores obtenidos en la presente investigación.

En la Gráfica 3, puede verse como va aumentando la concentración de saponinas a través del tiempo desde el día 1 hasta el 90 para hojas de guayaba y aguacate. El aumento en la concentración de saponinas es constante pero

ligero hasta el día 14, mismo que aumenta de manera considerable y drástica desde el día 30 y hasta el día 90.



*Gráfica 3. Concentración de saponinas de los extractos en hojas de aguacate y de guayaba a través del tiempo*

Cómo se observa en la presente investigación, la concentración de saponinas también fue alta, al igual que los fenoles, tanto en hojas de guayaba como en las de aguacate, por lo que igual forma, por los efectos antioxidantes y antimicrobianos propios de los materiales, se sugiere probarlas en forma de polvo seco y molido, como ingrediente base para el desarrollo tecnológico de otros productos actuales como son biopelículas activas y recubrimientos para aumentar la vida de anaquel de diversos productos agropecuarios.

#### **7.4. Determinación de pH de los extractos de hojas de aguacate y de guayaba**

Los resultados indicaron que existieron diferencias significativas para tiempo y no existieron para especie y para interacción.



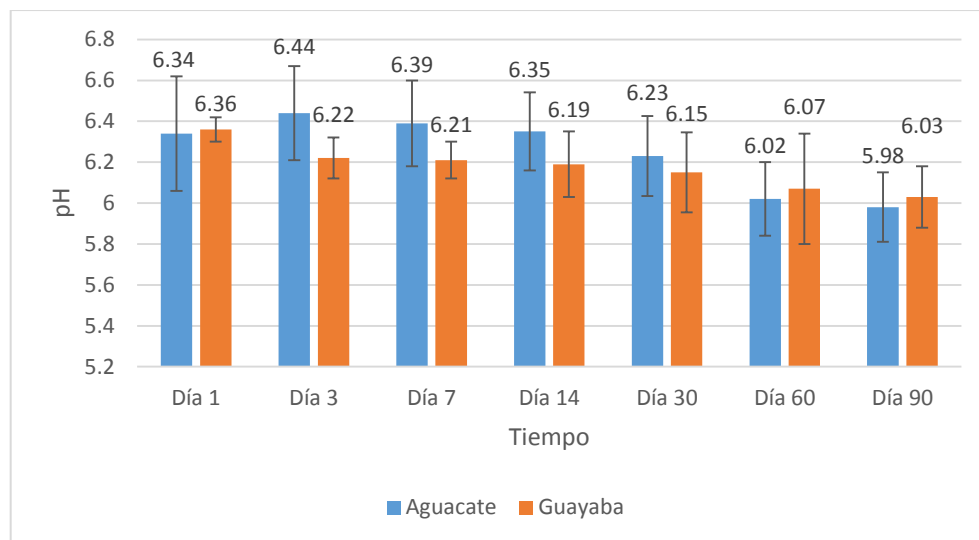
Al encontrar diferencias significativas para tiempo se procedió a aplicar una prueba de comparación de medias de DMS ( $p \leq 0.05$ ) (Cuadro 1).

Para la variable *tiempo*, se formaron 3 grupos estadísticamente diferentes ( $p \leq 0.05$ ). En el grupo uno y con media más baja estuvieron los tiempos 7 y 6 con pH de 6.00 y 6.05, respectivamente. En el grupo dos estuvieron los tiempos 5, y 4 con pH de 6.19, y 6.27, respectivamente. Finalmente, en el grupo tres se encontraron los tiempos 3, 2 y 1 con pH de 6.30, 6.33 y 6.35, respectivamente.

Al no existir diferencias significativas para *especie* y para *interacción*, no hay comparación de medias.

Los resultados encontrados en ésta investigación se encuentran en un rango entre 5.98 y 6.44. Mena *et al.*, 2015 en su experimento determinación de saponinas y otros metabolitos secundarios en extractos acuosos de *Sapindus saponaria* L. (jaboncillo), obtuvieron en sus extractos acuosos un pH de 7.00 y es mayor que los valores encontrados en la presente investigación.

En la Gráfica 4, puede verse como a partir del día 3 el pH va descendiendo ligeramente, a través del tiempo que duro el experimento (90 días).



Gráfica 4. Determinación de pH de los extractos de hojas de aguacate y de guayaba

En algunos estudios se ha indicado que el pH tiene un efecto significativo para la extracción de fenoles, en tanto más básico sea (incluso acercándose a 8) la extracción de fenoles es mayor, tal como fue en el caso de hojas de achiote (Sepúlveda *et al.*, 2016), sin embargo, en el presente trabajo de investigación para guayaba y aguacate ocurrió justamente lo contrario. Aunque, no se ve en éste estudio un efecto del pH sobre los fenoles.

En éste sentido, si se quisiera usar éste material para incluirlo en un desarrollo tecnológico abría que conocer las condiciones en las que la adición del extracto afectase lo menos posible, la composición del alimento a desarrollar, desde el componente fenoles en su variable pH.

## **7.5. Determinación de color ( $L^*$ , $a^*$ , $b^*$ , $c^*$ y $h$ ) de los extractos de hoja de aguacate y de guayaba**

### **7.5.1. Determinación de color $L^*$**

Los resultados indicaron que existieron diferencias significativas para tiempo, para especie y para interacción.

Al encontrar diferencias significativas para tiempo, especie y para interacción se aplicó una prueba de comparación de medias de DMS ( $p \leq 0.05$ ), lo que se ve en el Cuadro 1.

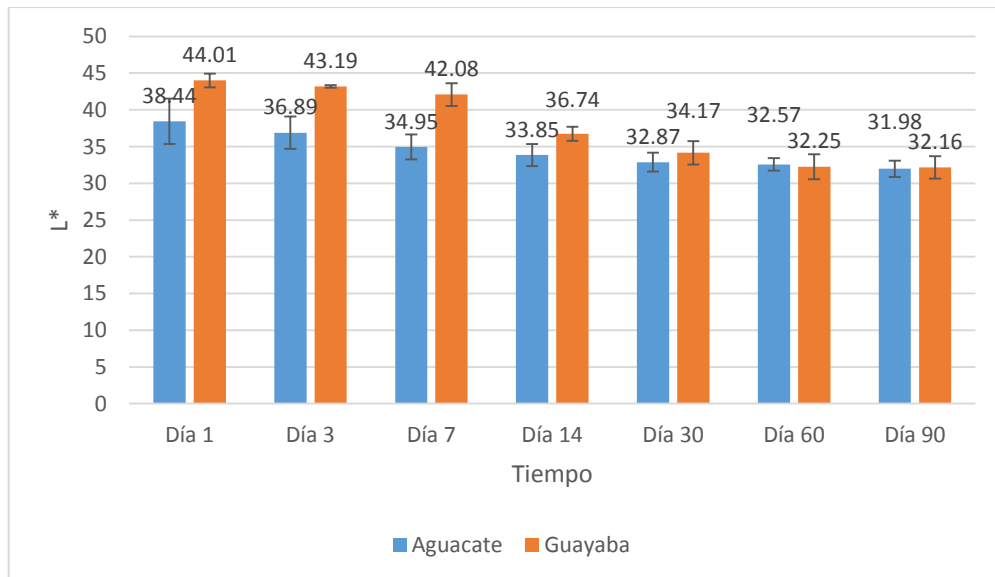
Para la variable *tiempo*, se formaron 3 grupos estadísticamente diferentes ( $p \leq 0.05$ ). En el grupo uno y con media más baja estuvieron los tiempos 7, 6 y 5 con 32.07, 32.41 y 33.52, respectivamente. En el segundo grupo estuvo el tiempo 4 con 35.29 y en el último grupo, los tiempos 3, 2 y 1 con 38.51, 40.04 y 41.22, respectivamente.

Para la variable especie se formaron 2 grupos estadísticamente significativos ( $p \leq 0.05$ ). En el grupo uno y con media más baja se observó a la especie 1 (aguacate) con 34.51 y en el grupo dos, la especie 2 (guayaba) con 37.80.

Para el caso de interacción se formaron 4 grupos estadísticamente diferentes ( $p \leq 0.05$ ). En el grupo uno y con media más baja estuvieron las interacciones 7,1; 7,2; 6,2; 6,1 y 5,1 con 31.98, 32.16, 32.25, 32.57 y 32.87, respectivamente. En el segundo grupo se observó a las interacciones 4,1; 5,2; 3,1; 4,2 y 2,1 con 33.85, 34.17, 34.95, 36.74 y 36.89, respectivamente. En el tercer grupo a las

interacciones 1,1 y con 38.44 y en el último grupo a las interacciones 3,2; 2,2 y 1,2 con 42.08, 43.19 y 44.01, respectivamente.

Los resultados encontrados en ésta investigación se encontraron en un rango entre 31.98 y 44.01. En la Gráfica 9, se muestra como el color en su componente L\* para los extractos de hojas de aguacate y de guayaba iniciaron en un valor muy alto y fueron disminuyendo a través del tiempo, desde el día 1 hasta el día 90. Los valores en los extractos de hoja de guayaba siempre fueron mayores que los valores en los extractos de hojas de aguacate durante toda la evaluación.



Gráfica 5. Determinación de color L\* de los extractos de hojas de aguacate y de guayaba

Para el caso de ésta investigación como ya se indicó los valores de L\* indicaron que se encuentran en un rango entre 31.98 y 44.01, lo que indicó que los extractos se encontraron tendientes al valor intermedio que es de 50, aunque

ligeramente opacos. Nuevamente se sugiere tomar en cuenta éste valor al usar el extracto en un alimento dependiendo que tan opaco o luminoso se requiera.

### **7.5.2. Determinación de color a\***

Los resultados indicaron que existieron diferencias significativas para especie y para interacción y no existieron para tiempo.

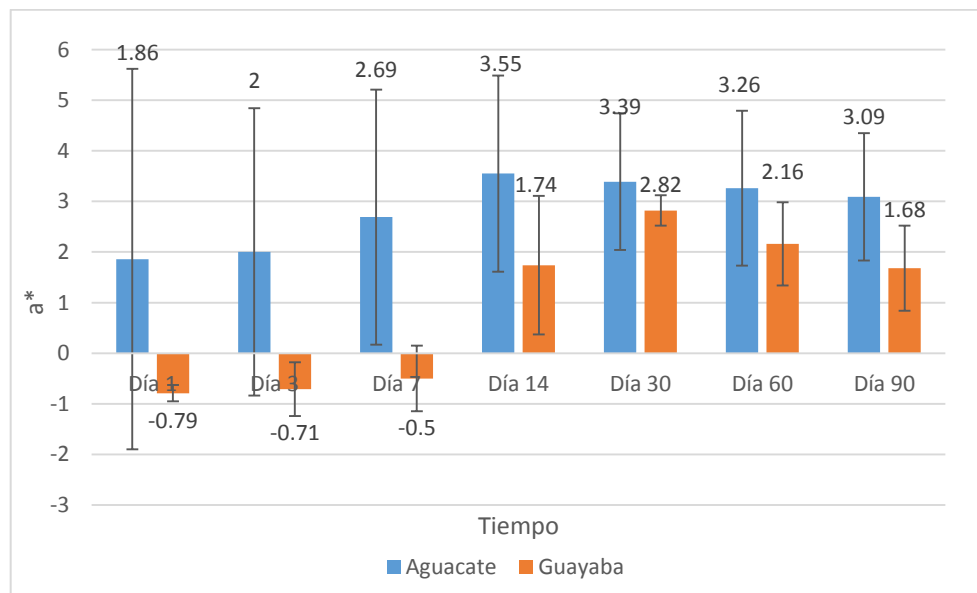
Al encontrar diferencias significativas en especie y en interacción se procedió a aplicar una prueba de comparación de medias de DMS ( $p \leq 0.05$ ), lo que se ve en el Cuadro 1.

Para la variable *especie*, se formaron 2 grupos estadísticamente diferentes ( $p \leq 0.05$ ). En el grupo uno y con media más baja estuvo la especie 2 (guayaba), con un valor de 0.91 y en el grupo dos estuvo la especie 1 (aguacate) con un valor de 2.83.

Para la variable *interacción* se formaron 3 grupos estadísticamente significativos ( $p \leq 0.05$ ). En el grupo uno y media más baja estuvieron las interacciones 1,2; 2,2 y 3,2 con -0.79, -0.71 y -0.50, respectivamente. En el segundo grupo se observaron las interacciones 7,2; 4,2; 1,1; 2,1 y 6,2 con 1.68, 1.74, 1.86 2.0 y 2.16, respectivamente y en el último grupo, se observaron a las interacciones 3,1; 5,2; 7,1; 6,1; 5,1; y 4,1 con 2.69, 2.82, 3.09, 3.26, 3.39, y 3.55, respectivamente.

Para el caso de *especie* no existieron diferencias significativas por lo que no hay comparación de medias.

Los resultados encontrados en ésta investigación para la variable  $a^*$  se encuentran en un rango entre -0.79 y 3.55. En la Gráfica 5, puede verse como el color en su componente  $a^*$  para aguacate, que desde el día 1 hasta llegar al día 14, alcanzó su valor mayor y luego, disminuyó hasta llegar al día 90.



Gráfica 6. Determinación de color  $a^*$  de los extractos de hojas de aguacate y de guayaba

Como era de esperarse debido a que ambas especies vegetales son verdes, y en especial estas eran muy oscuras, los extractos estuvieron muy cercanos a 0. Desde -0.79 en verde hasta 3.55 en rojo.

Igual que en el caso de saponinas y fenoles,  $a^*$ , depende de la variedad de la planta, condiciones de cultivo, época del año y método de recolección. Además del método de extracción y condiciones de almacenamiento hasta su uso.

Finalmente, sólo queda mencionar que el uso de estos extractos dependerá del alimento al cuál, será añadido ya que, debido al color, se podrían modificar las características ideales del mismo.

### 7.5.3. Determinación de color b\*

Los resultados indicaron que existieron diferencias significativas para tiempo y para interacción y no existieron para especie.

Al encontrar diferencias significativas para tiempo y para interacción se procedió a aplicar una prueba de comparación de medias ( $p \leq 0.05$ ) (Cuadro 1).

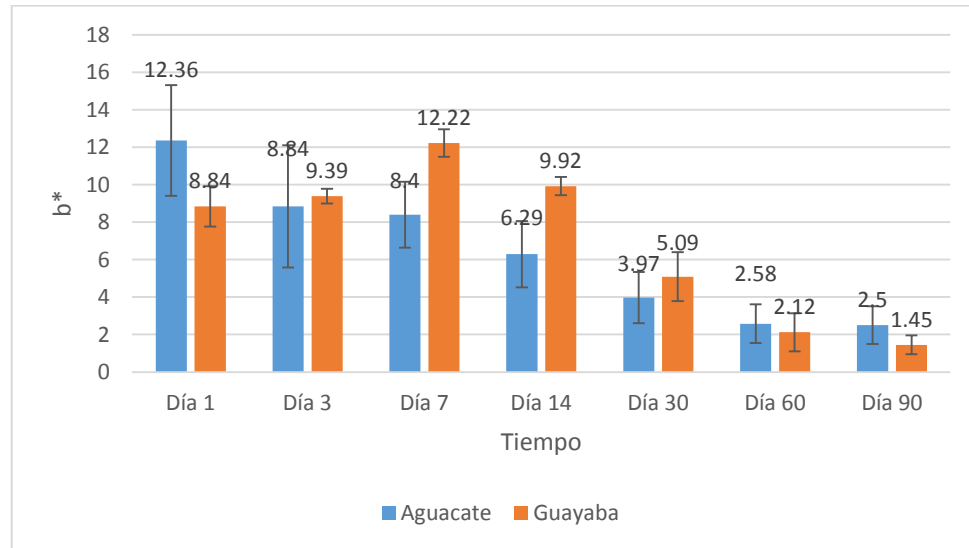
Para la variable *tiempo* se formaron 2 grupos estadísticamente diferentes ( $p \leq 0.05$ ). En el grupo uno y con media más baja estuvieron los tiempos 7, 6 y 5 con 1.97, 2.35 y 4.53, respectivamente y en el grupo dos, se observó a los tiempos 4, 2, 3 y 1 con 8.10, 10.29, 10.31 y 10.60, respectivamente.

Para el caso de la variable *interacción* se formaron 4 grupos estadísticamente significativos ( $p \leq 0.05$ ). En el grupo uno y con media más baja estuvieron las interacciones 7,2; 6,2; 7,1 y 6,1 con 1.45, 2.12, 2.50 y 2.58, respectivamente. En el grupo dos, estuvieron las interacciones 5,1; 5,2 y 4,1 con 3.97, 5.09 y 6.29, respectivamente. Así en el grupo tres estuvieron las interacciones 3,1; 1,2; 2,2 y 4,2 con 8.40, 8.84, 9.39 y 9.92, respectivamente y finalmente estuvieron las interacciones 2,1; 3,2 y 1,1 con 11.19, 12.22 y 12.36, respectivamente.

Para el caso de *especie*, no existieron diferencias significativas por lo que no hay comparación de medias.

Los resultados encontrados en ésta investigación se encuentran en un rango entre 1.45 y 12.36. En la Gráfica 6, se muestra como el color en su componente b\* de los extractos de hojas de aguacate y de guayaba iniciaron con valores muy altos y éstos fueron disminuyendo o degradándose, a través del tiempo,

hasta que alcanzaron un valor muy cercano a cero, desde el día 1 hasta el día 90.



*Gráfica 7. Determinación de color b\* de los extractos de hojas de aguacate y de guayaba*

Como ya se indicó, ambas especies vegetales eran verdes y muy oscuras, así como se esperaba, los extractos fueron muy oscuros y estuvieron muy cercanos a cero. Desde 12.36 a 1.45, que a pesar de que son positivos al tender a cero son muy oscuros.

Al igual que en el caso de a\*, el uso de este extracto en relación a la variable b\*, dependerá del efecto que pueda darle éste color al alimento donde se desee aplicar, como sería el caso de incluirse en un recubrimiento comestible.

#### **7.5.4. Determinación de color c\***

Los resultados indicaron que existieron diferencias significativas para tiempo y para interacción y no para especie.



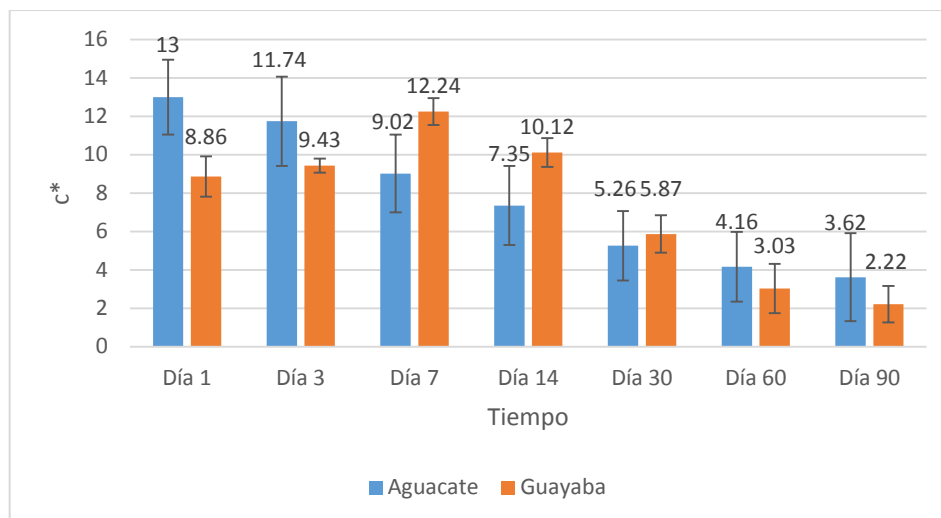
Al encontrar diferencias significativas para tiempo y para interacción se procedió a aplicar una prueba de comparación de medias de DMS ( $p \leq 0.05$ ), como se ve en el Cuadro 1.

Para la variable *tiempo*, se formaron 2 grupos estadísticamente diferentes ( $p \leq 0.05$ ). En el grupo uno y con media más baja se reportaron los tiempos 7, 6 y 5 con 2.92, 3.59 y 5.56, respectivamente, así como en el grupo dos estuvieron los tiempos 4, 2, 3 y 1 con 8.73, 10.59, 10.63 y 10.93, respectivamente.

Para el caso de la variable *interacción* se formaron 3 grupos estadísticamente significativos ( $p \leq 0.05$ ). En el grupo uno y con media más baja se observaron a las interacciones 7,2; 6,2; 7,1; 6,1; 5,1; y 5,2 con 2.22, 3.03, 3.62, 4.16, 5.26 y 5.87, respectivamente. En el grupo dos, estuvieron las interacciones 4,1; 1,2; 3,1; y 2,2 con 7.35, 8.86, 9.02 y 9.43, respectivamente. Finalmente, en el último grupo se obtuvieron las interacciones 4,2; 2,1; 3,2 y 1,1 con 10.12, 11.74, 12.24 y 13.0, respectivamente.

Para el caso de la variable *especie*, no existieron diferencias significativas por lo que no hay comparación de medias.

Los resultados encontrados en ésta investigación se encuentran en un rango entre 2.22 y 13.0. En la Gráfica 7, se muestra como el color en su componente  $c^*$  inició en un valor alto (13) y fue disminuyendo a través del tiempo, desde el día 1 hasta el día 90 en los extractos de hojas de aguacate, y en los de hojas de guayaba desde el día 1 hasta el día 7 y luego disminuyó hasta llegar al día 90.



Gráfica 8. Determinación de color  $c^*$  de los extractos de hojas de aguacate y guayaba

El rango de valores para  $c^*$  en esta investigación como ya se indicó va de 2.22 a 13.0, y como ya se vio, 0 es poco intenso y 100 muy intenso, el rango de valores obtenido para los 14 extractos indicó en general que son poco intensos.

#### 7.5.5. Determinación de color h

Los resultados indicaron que existieron diferencias significativas para tiempo, para especie y para interacción.

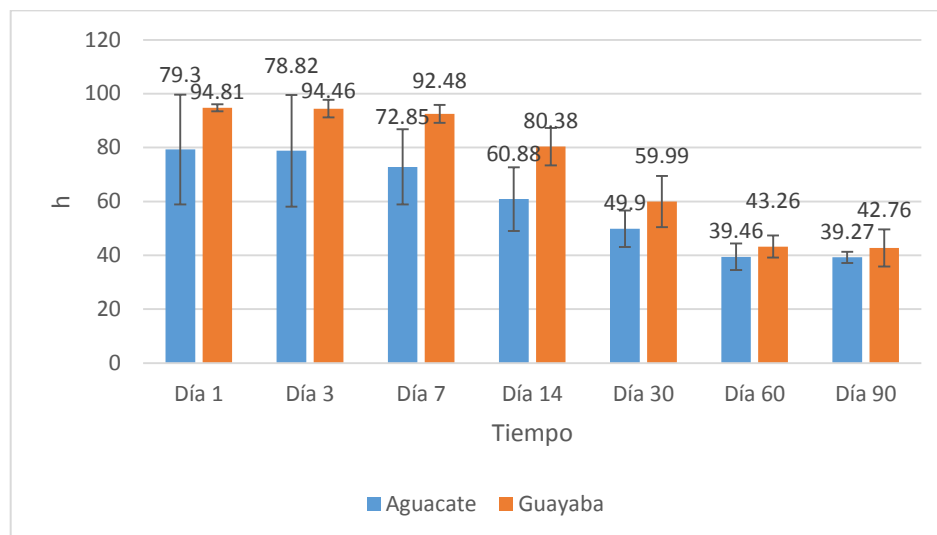
Al encontrar diferencias significativas para tiempo, para especie y para interacción se procedió a aplicar una prueba de comparación de medias de DMS ( $p \leq 0.05$ ), como muestra el Cuadro 1.

Para la variable *tiempo* se formaron 2 grupos estadísticamente diferentes ( $p \leq 0.05$ ). En el grupo uno y con media más baja estuvieron los tiempos 7, 6 y 5 con 41.01, 41.36 y 54.94, respectivamente. En el grupo dos, los tiempos 4, 3, 2 y 1 con 70.63, 82.67, 86.64 y 87.05, respectivamente.

Para el caso de *especie* se formaron 2 grupos estadísticamente diferentes ( $p \leq 0.05$ ). En el grupo uno y con media más baja estuvo la especie 1 (aguacate), con valor de 60.07 y en el grupo dos la especie 2 con un valor de 72.59.

Para la variable *interacción* se formaron 2 grupos estadísticamente significativos ( $p \leq 0.05$ ). En el grupo uno y con media más baja estuvieron las interacciones 7,1; 6,1; 7,2, 6,2; 5,1; 5,2 y 4,1 con 39.27, 39.46, 42.76, 43.26, 49.90, 59.99 y 60.88, respectivamente y en el grupo dos, las interacciones 3,1; 2,1; 1,1; 4,2; 3,2; 2,2 y 1,2 con 72.85, 78.82, 79.30, 80.38, 92.48, 94.46 y 94.81, respectivamente.

Los resultados encontrados en ésta investigación se encuentran en un rango entre 39.27 y 94.81. En la Gráfica 8, se muestra como el color en su componente h para los extractos de hojas de aguacate y de guayaba iniciaron en un valor muy alto en el día 1, el cual fue disminuyendo con el tiempo, hasta que alcanzó la mitad de su valor en el día 90.



Gráfica 9. Determinación de color h de los extractos de hojas de aguacate y de guayaba

Para el caso de h (hue), el rango de valores obtenidos en esta investigación para los 14 extractos fue de 39.27 a 94.81, observados de acuerdo a la siguiente clasificación que en general el aguacate fue de verde hacia rojo y la guayaba de verde hacia amarillo.

Los tonos correspondientes a los distintos ángulos de matiz o tono, de acuerdo a la propuesta de Boscarol, 2007, son aproximadamente:

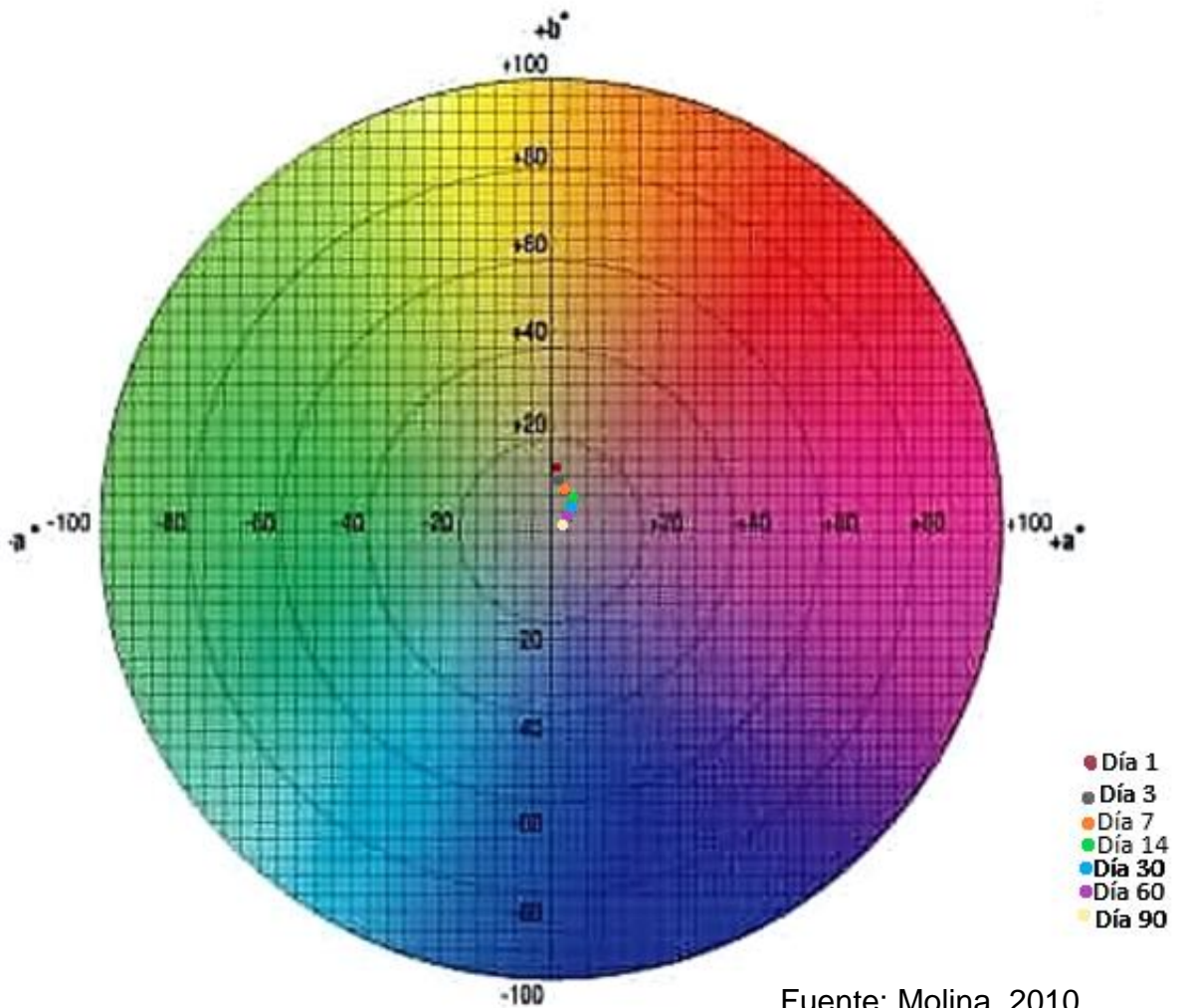
Cuadro 2. Resultados de color h de los 14 extractos de aguacate y de guayaba

Color	Grados	Interacción
Rosa	0°	7,1; 6,1; 7,2; 6,2
Rojo	45°	5,1; 5,2; 4,1; 3,1; 2,1, 1,1; 4,2
Naranja/amarillo	90°	3,2; 2,2, 1,2
Amarillo/verde	135°	
Verde	180°	
Azul claro	225°	
Azul rey	270°	
Morado	315°	

## 7.6. Color de los extractos

### 7.6.1. Color ( $a^*$ y $b^*$ ) de los extractos de hojas de aguacate

En la Gráfica 10, se observan los 7 puntos que representan a las combinaciones de tiempo o vida de anaquel del extracto (desde el día 1 hasta el 90) de hojas de aguacate.

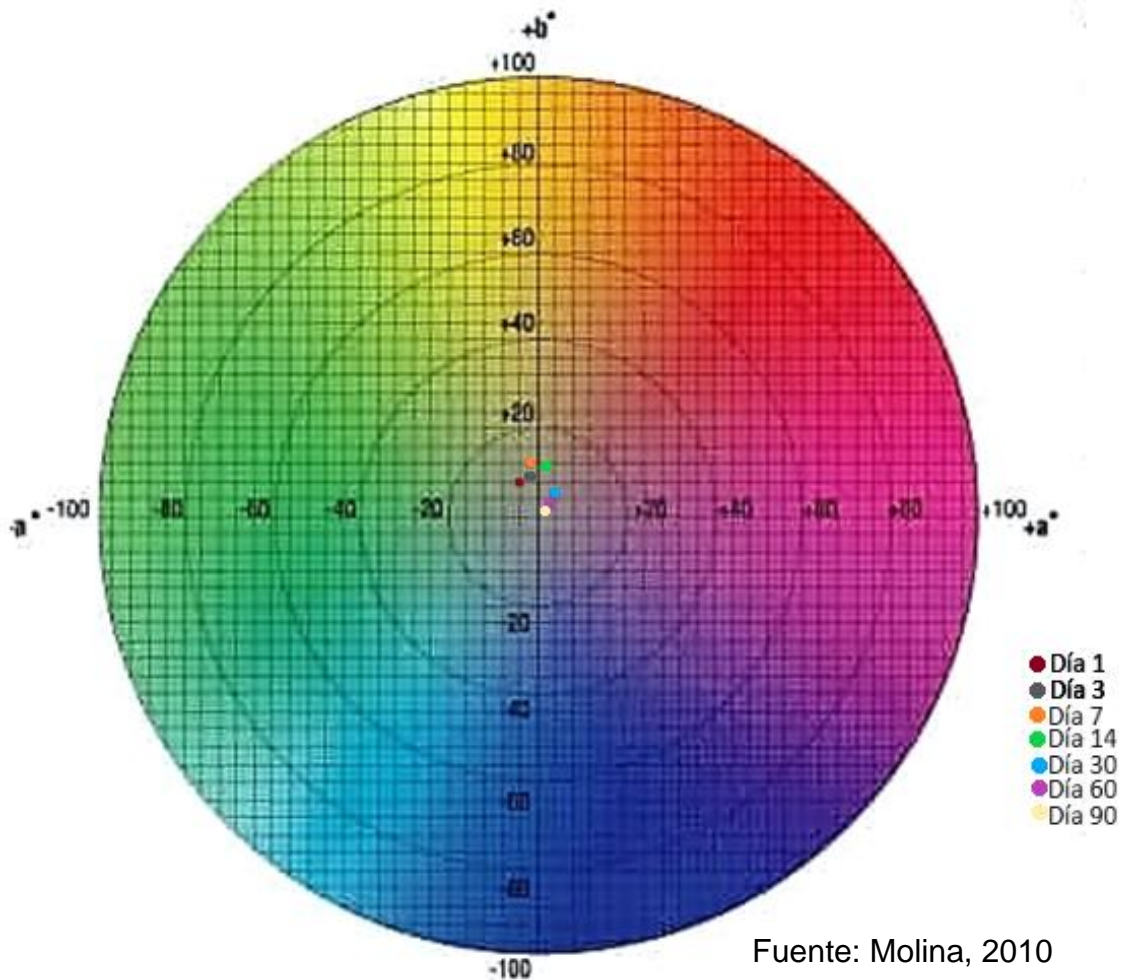


Fuente: Molina, 2010

Gráfica 10. Ubicación del color en el círculo cromático de los extractos de las hojas de aguacate a través del tiempo

### 7.6.2. Color ( $a^*$ y $b^*$ ) de los extractos de hojas de guayaba

En la Gráfica 11, se ubican los 7 puntos que representan a las combinaciones de tiempo o vida de anaquel del extracto (desde el día 1 hasta el 90) de hojas de guayaba.



Gráfica 11. Ubicación de color en el círculo cromático de los extractos de guayaba a través del tiempo

## **7.7. Correlación múltiple para fenoles por el método de Folin-Ciocalteu, por solventes y para saponinas para los extractos de hojas de aguacate y de guayaba**

Aunado al análisis de varianza que indico sobre las diferencias entre las variables fenoles por Folin-Ciocalteu, fenoles por solventes, saponinas, pH y color, se realizó un análisis de correlación múltiple mediante una regresión lineal solo para fenoles por Folin-Ciocalteu, Fenoles por solventes y saponinas para extractos de hojas de guayaba (*Psidium guajava* L.) y de aguacate (*Persea americana* Mill.) en relación al tiempo (desde 1 hasta 90 días) en el programa estadístico Statgraphics plus 5.0.

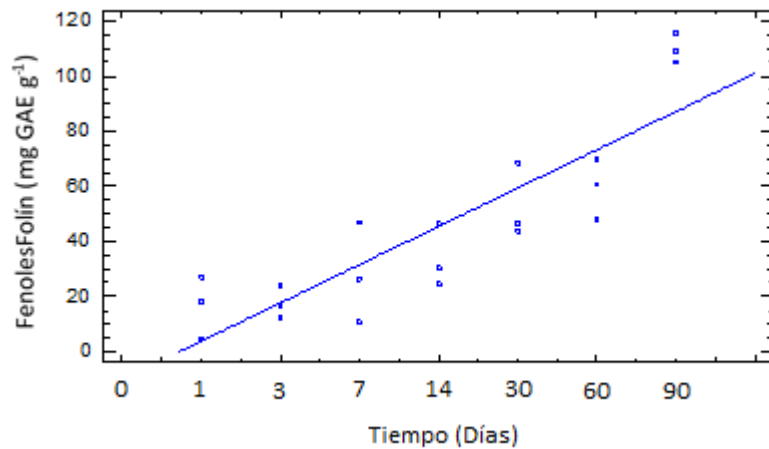
De forma general para las tres variables se obtuvo una correlación muy alta ya que  $r^2=90\%$  y  $p=0.05$  indicando que las variables efectivamente están asociadas con el tiempo, indicando que, a mayor tiempo, mayor concentración de fenoles y saponinas. Además, se realizó una regresión simple en el mismo programa para cada variable de forma independiente en relación al tiempo.

### **7.7.1. Regresión lineal simple para fenoles por Folín-Ciocalteu en extractos de hojas de aguacate**

La Gráfica 12, muestra cómo se relacionan las saponinas contra el tiempo en aguacate; ( $r^2=76.08\%$ ,  $p=0.05$ ). La ecuación que muestra la relación es:

$$FenolesFolín = -10.02 + 13.87 * Tiempo.$$

Se observó que en el día 60 bajó ligeramente la concentración de fenoles, sin embargo, la tendencia siguió en aumento.

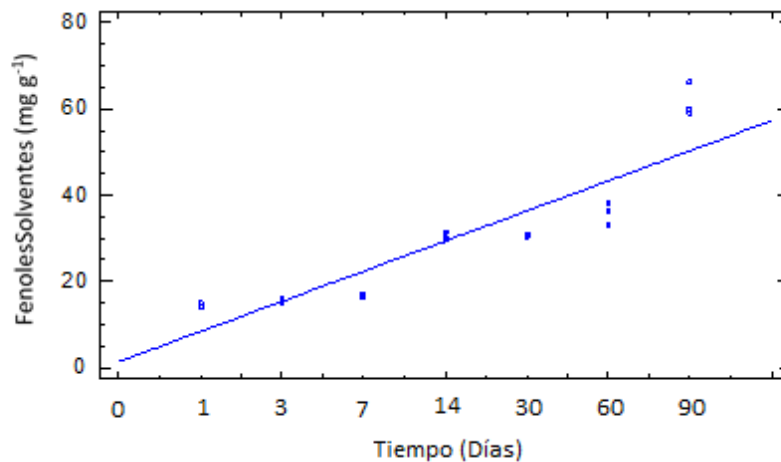


Gráfica 12. Regresión lineal simple de fenoles por Folin-Ciocalteu en relación al tiempo para los extractos de hojas de aguacate

### 7.7.2. Regresión lineal simple para fenoles por solventes en extractos de hojas de aguacate

La Gráfica 13, muestra la regresión lineal simple de fenoles por solvente en relación al tiempo para Aguacate donde se ve como el contenido de fenoles aumenta conforme pasa el tiempo ( $r^2=81.68\%$  y  $p=0.05$ ).

$$\text{FenolesSolventes} = 1.39 + 6.98 + \text{Tiempo}$$

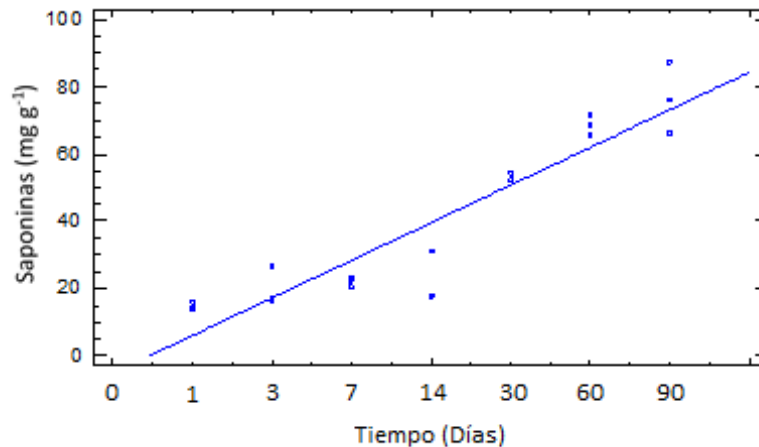


Gráfica 13. Regresión lineal simple de fenoles por solventes en relación al tiempo para los extractos de hojas de aguacate



### 7.7.3. Regresión lineal simple para saponinas en los extractos de hojas de aguacate

En la Gráfica 14, se observa que, a mayor tiempo, mayor contenido de saponinas en Aguacate ( $r^2=84.74\%$  y  $p=0.05$ ).  $Saponinas = 5.20 + 11.18 * Tiempo$

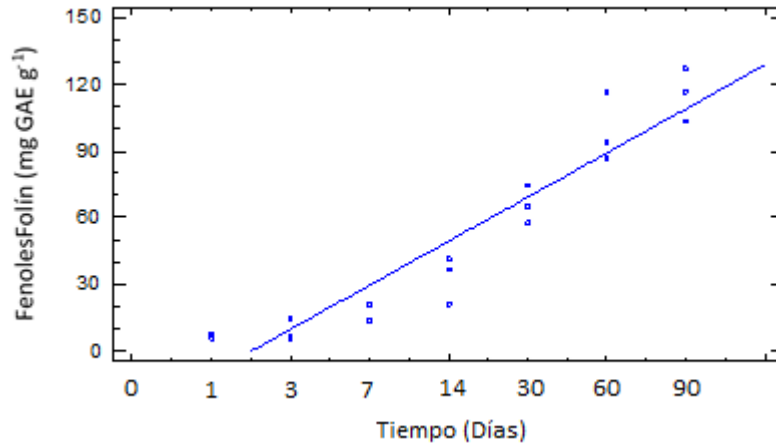


Gráfica 14. Regresión lineal simple de saponinas en relación al tiempo para los extractos de hojas de aguacate

### 7.7.4. Regresión lineal para fenoles por Folín-Ciocalteu en los extractos de hojas de guayaba

En la Gráfica 15 se muestra la regresión lineal simple de fenoles por Folín-Ciocalteu en relación al tiempo para Guayaba aumenta con el paso del tiempo ( $r^2=89.42\%$  y  $p=0.05$ ).  $FenolesFolín = -29.75 + 19.80 * Tiempo$

En relación a fenoles por Folín-Ciocalteu, la relación de este componente con el tiempo fue mayor en los extractos de hojas de guayaba ( $r^2=89.42\%$ ) que en los de aguacate ( $r^2=76.08\%$ ). Lo cual, sugiere que el tiempo permite que el tipo de fenoles en las hojas de guayaba pudieran seguirse extrayendo, bajo las condiciones ensayadas.

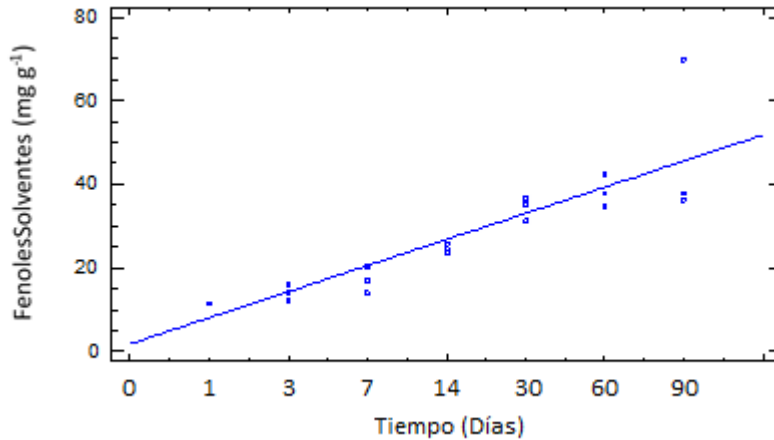


Gráfica 15. Regresión lineal simple de fenoles por Folín-Ciocalteu en relación al tiempo para los extractos de hojas de guayaba

#### 7.7.5. Regresión lineal simple para fenoles por solventes en los extractos de hojas de guayaba

La Gráfica 16 muestra la regresión lineal simple de la concentración de fenoles por solvente en relación al tiempo para extractos de hojas de guayaba, donde se ve que el contenido de fenoles aumentó con el paso del tiempo ( $r^2=78.43\%$  y  $p=0.05$ ). La ecuación fue:  $FenolesSolvente = 1.77 + 6.26 * Tiempo$

En relación a la concentración de fenoles por solvente, la relación de este componente con el tiempo fue ligeramente mayor en los extractos de hojas de aguacate ( $r^2=81.68\%$ ) que en los de guayaba ( $r^2=78.43\%$ ).



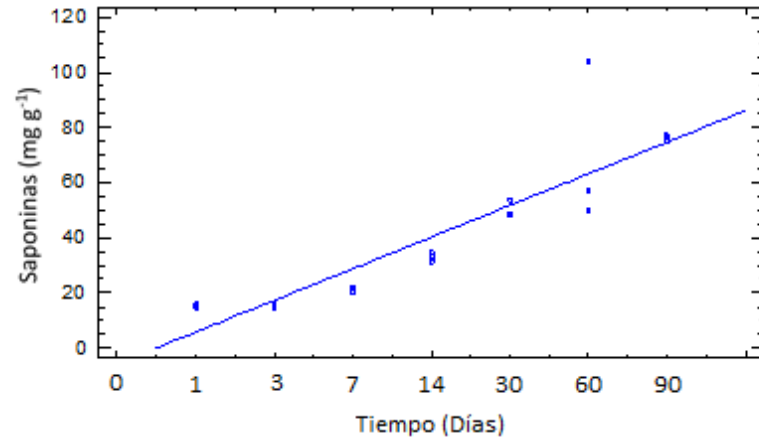
Gráfica 16. Regresión lineal simple de fenoles por solventes en relación al tiempo para los extractos de hojas de guayaba

### 7.7.5. Regresión lineal simple para saponinas en los extractos de hojas de guayaba

La Gráfica 17 muestra cómo se relacionan la concentración de saponinas en relación tiempo para los extractos de guayaba. Se observó que la concentración de saponinas aumentó con el paso del tiempo ( $r^2=81.27\%$  y  $p= 005$ ).

$$Saponinas = -5.59 + 11.47 * Tiempo$$

La relación de saponinas con el tiempo, fue ligeramente mayor en los extractos de hojas de aguacate ( $r^2=84.74\%$ ) que en los de guayaba ( $r^2=81.27\%$ ).



Gráfica 17. Regresión lineal simple de saponinas en relación al tiempo para los extractos de hojas de guayaba

## VIII. CONCLUSIONES

Contrario a lo que se propuso en la hipótesis, existe una relación directa entre el tiempo de maceración desde el día 1 hasta el día 90 (tiempo que duró el experimento) y la mayor concentración de fenoles totales, tanto en extractos de hojas de guayaba como en los de aguacate.

La concentración de fenoles por Folin-Ciocalteu, por solventes y la concentración de saponinas aumentaron considerablemente con el tiempo desde, el día 1 donde inicio el experimento y hasta el día 90, que terminó, tanto para hojas de aguacate como para las de guayaba.

El pH se fue acidificando ligeramente a través del tiempo, sin embargo, fueron valores de pH necesarios para mantener estable el extracto a través del tiempo.

En relación al color, en sus variables  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $c^*$  y  $h$  seguramente debido al pH se mantuvieron estables a través del tiempo, por lo que no fueron afectados.

## IX. BIBLIOGRAFÍA

- Albarracín, C. y Gallo, G. 2003. Comparación de dos métodos de extracción de aceite esencial utilizando *Piper aduncum* (cordoncillo) procedente de la zona cafetera. de Universidad Nacional de Colombia Sitioweb:<http://www.bdigital.unal.edu.co/989/1/gloriacristinaalbarracinmon-toya.2003.pdf>. Febrero 13, 2018.
- Aproare. 2009. Manual técnico Cultivo de aguacate. de ICA Sitio web: <https://sioc.minagricultura.gov.co/Aguacate/Documentos/005%20%20Documentos%20T%C3%A9cnicos/005%20%20D.T%20%20Paquete%20Tecnologico%20Aguacate.pdf>.
- Arizmendi, D., Gómez, R., Dublán, O., Gómez, V. y Domínguez, A. 2015. Electron paramagnetic resonance study of hydrogen peroxide/ascorbic acid ratio as initiator redox pair in the inulin-gallic acid molecular grafting reaction. ScienceDirect, 136, pp. 350-357.
- Bernal, J. 2015. El cultivo del aguacate (*Persea americana* Miller), fruta de extraordinarias propiedades alimenticias, curativas e industriales (Primera parte). DANE, 40, pp. 1-8.
- Boscarol M. 2007. El espacio de color L\* c\* h de La administración de o gestión del color Recuperado en Sitio web: [http://gusgsm.com/espacio\\_color\\_lch](http://gusgsm.com/espacio_color_lch). Junio 18, 2018.
- Brai, B.I.C., Odetola, A.A. y Agomo, P.U. 2007. Effects of *Persea americana* leaf extracts on body weight and liver lipids in rats fed hyperlipidaemic diet. African Journal of Biotechnology, 6, pp. 1007-1011.

- Butsat, S. and Siriamornpun, S. 2016. Effect of solvent types and extraction times on phenolic and flavonoid contents and antioxidant activity in leaf extracts of *Amomum chinense* C. International Food Research Journal, 23(1), pp. 180-187.
- Calderón, M.C. 2006. Un aliado para la salud y la belleza: la palta (aguacate). Sitio web: [www.cicalmo.wordpress.com/2006](http://www.cicalmo.wordpress.com/2006).
- Carrión, A. y García, C. 2010. Preparación de extractos vegetales: Determinación de eficiencia de metódica. de Universidad de Cuenca Ecuador. Sitio web: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/2483/1/tq1005.pdf>. Marzo 6, 2018.
- Casaca, A. 2005. El cultivo de la guayaba. de PROMOSTA Sitio web: <http://www.dicta.hn/files/2005,-El-cultivo-de-la-guayaba,-G.pdf>. Febrero 13, 2018.
- Casassa, F., Sari, S., Avagnina, S., Díaz, M., Jofré, V., Fanzone, M. y Catania, C. 2005. Influencia de dos técnicas de maceración sobre la composición polifenólica, aromática y las características organolépticas de vinos cv. Merlot, de INTA Sitio web: [https://www.researchgate.net/publication/259558008\\_Influencia\\_de\\_dos\\_tecnicas\\_de\\_maceracion\\_sobre\\_la\\_composicion\\_polifenolica\\_aromatica\\_y\\_las\\_caracteristicas\\_organolepticas\\_de\\_vinos\\_cv\\_Merlot](https://www.researchgate.net/publication/259558008_Influencia_de_dos_tecnicas_de_maceracion_sobre_la_composicion_polifenolica_aromatica_y_las_caracteristicas_organolepticas_de_vinos_cv_Merlot). Febrero 22, 2018.

- Castells, X. E. 2012. Aprovechamiento de residuos agrícolas y forestales. Madrid, España: Diaz de Santos. p. 712.
- Castillo, R. 2016, marzo 15. Nuevas especies de Guayaba en México. El Universal. pp. 5-10.
- Cruz, R. 2007. Diagnóstico del Estado de Aplicación de Buenas Prácticas Agrícolas en una Unidad de Producción de Guayaba (*Psidium guajava* L), del Departamento de Granada, Nicaragua, de UNA Sitio web: <http://repositorio.una.edu.ni/2040/1/tnf01c957a.pdf>. Febrero 20, 2018.
- Cuadros, S. 2008. Residuos agrícolas, forestales y lodos. de eoi Sitio web: [http://api.eoi.es/api\\_v1\\_dev.php/fedora/asset/eoi:45732/componente45730.pdf](http://api.eoi.es/api_v1_dev.php/fedora/asset/eoi:45732/componente45730.pdf). Marzo 1, 2018.
- Escobar, M. 2010. Extracción de compuestos fenólicos de las cáscaras de cítricos producidos en México. Junio 20, 2018, de IPN Sitio web: <https://tesis.ipn.mx/bitstream/handle/123456789/9612/34.pdf>.
- González, A. 2004. Obtención de aceites esenciales y extractos etanolicos de plantas del amazonas. de universidad nacional de Colombia Sitio web: <http://www.bdigital.unal.edu.co/1173/1/angelaandreaagonzalezvilla.2004.pdf>. Febrero 13, 2018.
- González, A. 2010. Caracterización química del color de diferentes variedades de guayaba (*Psidium guajava* L.) colombiana. de Universidad Nacional de Colombia. Sitio web: <http://www.bdigital.unal.edu.co/2815/1/197449.2010.pdf>. Junio 20, 2018.



- González, E., Padilla, S., Reyes, L., Perales, M. y Esquivel, F. 2001. Guayaba su cultivo en México. México: INIFAP. pp. 21-25
- Gorriti, A., Arroyo, J., Negrón, L., Jurado, B., Purizaca, H., Santiago, I., Taype, E. y Quispe, F. 2009. Antocianinas, fenoles totales y actividad antioxidante de las corontas del maíz morado (*Zea mays* L.): Método de extracción. Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas, 8 (6), pp. 509 – 518.
- Hernández, S., Lugo, E., Díaz, L. y Villanueva, S. 2005. Extracción y cuantificación indirecta de las saponinas de *Agave lechuguilla* Torrey. e-Gnosis, 3,11, p. 6.
- Isaza J., Veloza L., Guevara D y Díaz A. 2015. A spectrometric approach to the phenol totals in species of *melastomataceae* family. Universidad Tecnológica de Pereira, Colombia. p 80.
- Martínez, F. 2002. Viticultura de calidad: factores que afectan al contenido de compuestos fenólicos. de ACE Sitio web: [http://www.acenologia.com/ciencia59\\_1.htm](http://www.acenologia.com/ciencia59_1.htm). Febrero 7, 2018.
- Mena, L., Tamargo, B., Salas, E., Plaza, L., Blanco, Y., Otero, A. y Sierra, G. 2015. Determinación de saponinas y otros metabolitos secundarios en extractos acuosos de *Sapindus saponaria* L. (jaboncillo). Revista Cubana de Plantas Medicinales, 20, pp. 106-116.
- Molina, L. 2010. Modo de color Lab. de SobreColores Sitio web: <https://sobrecolors.blogspot.com/2010/03/modo-de-color-lab.html>. Marzo 18, 2018.

- Muñoz C, W., Chávez R, W., Pabón, L., Rendón F, M., Patricia-Chaparro, M. y Otálvaro-Álvarez, Á. 2015. Extracción de compuestos fenólicos con actividad antioxidante a partir de Champa (*Campomanesia lineatifolia*). Revista CENIC. Ciencias Químicas, 46, pp. 38-46.
- Peñarrieta, J., Tejeda, L., Mollinedo, P., Vila, J., y Bravo, J. 2014. Compuestos fenólicos y su presencia en alimentos. Revista Boliviana de Química, 31 (2), pp. 68-81.
- Pérez, E., Ettiene, G., Casassa, A., Silva, N., Raga, J., González, C., Sandoval, L. y Medina, D. 2014. Determinación de fenoles y flavonoides totales en hojas de guayabo (*Psidium guajava L.*). Revista Facultad Agronomía, 31, pp. 60-67.
- Restrepo D., Narváez C. y Restrepo L. P. 2009. Extracción de compuestos con actividad de frutos de guayaba cultivada en Vélez Santander, Colombia. Quím. Nova, 32 (6): 15171522.
- Rojas A., Jaramillo J, C. y Lemus B. 2015. Métodos analíticos para la determinación de metabolitos secundarios de plantas. Universidad Machala, Ecuador. p 108.
- SAGARPA. 2011. Monografía de cultivos: Aguacate. de SAGARPA Sitio web:<http://www.sagarpa.gob.mx/agronegocios/Documents/pablo/Documentos/Monografias/Monograf%C3%ADa%20del%20aguacate.pdf>. Febrero 13, 2018.
- SAGARPA. 2017. Aumenta 8.2 por ciento producción de guayaba en México en el último trienio. de SAGARPA Sitio web:

<http://www.sagarpa.gob.mx/Delegaciones/nayarit/boletines/Paginas/BNS-AGENE072017.aspx>. Marzo 1, 2018.

- Salem, N., Msaada, K., Hamdaoui, G., Limam, F. y Marzouk, B. 2011. Variation in phenolic composition and antioxidant activity during flower development of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) Journal Agriculture Food Chemical, 59, pp. 4455-4463.
- Salinas, Y., Zúñiga, A., Jiménez, L., Serrano, V. y Sánchez. C. 2012. Color en cálices de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) y su relación con características fisicoquímicas de sus extractos acuosos. Revista Chapingo Serie Horticultura, 18, pp. 395-407.
- Sanginés, L. 2008. Aguacates en alimentación humana y animal. Una reseña corta. Revista Computadorizada de Producción Porcina, 15 (3). pp. 211-214.
- Sepúlveda, C., Ciro, G. y Zapata, E. 2016. Extracción de compuestos fenólicos y actividad antioxidante de hojas de *Bixa orellana* L. (achiote). Revista Cubana de Plantas Medicinales, 21(2). pp. 133-144.
- Shilpa, K, Varun K, Lakshmi, BS. 2010. An alternate method of natural drug production: Eliciting secondary metabolite production using plant cell culture. J Plant Science, 5, pp. 222-247.
- SIAP. 2016. Guayaba, reina de la Vitamina C. de SIAP Sitio web: [/www.gob.mx/siap/articulos/guayaba-reina-de-la-vitamina-c?idiom=es](http://www.gob.mx/siap/articulos/guayaba-reina-de-la-vitamina-c?idiom=es). Marzo 6, 2018.

- SIAP. 2017. Boletín mensual de la producción Aguacate. de SIAP Sitio web:[https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/290821/Boletin\\_mens\\_\\_aguacate\\_cifras\\_a\\_dic2017.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/290821/Boletin_mens__aguacate_cifras_a_dic2017.pdf). Marzo 6, 2018.
- Thaipong K., Boonprakoba U., Crosbyb K., Cisneros-Zevallos L. y Byrne D. 2006. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *J. Food Compos. Anal.*, 19. pp. 669–675.
- Tomás Ch., Huamán M., Aguirre M. y Barrera T. 2010. Extracción y clasificación de la saponina del *Sapindus saponaria* L., “boliche”. *Rev. Per. Quím. Ing. Quím.* 13 (2), pp. 36-39.
- Vargas, D., Soto, M., González, V., Mark, E. y Martínez, A. 2006. Cinética de acumulación y distribución de flavonoides en guayaba (*Psidium guajava* L.). *Agrociencia.* 40 (1), pp. 109-115.
- Vega, J. Y. 2012. El aguacate en Colombia: estudio de caso en los Montes de María en el Caribe colombiano. *Banco de la República* (171), pp. 1-27.
- Yamassaki, F. T., Campestrini, L. H., Zawadzki-Baggio, S. F. y Baron, J. B. 2017. Avocado leaves: Influence of drying process, thermal incubation, and storage conditions on preservation of polyphenolic compounds and antioxidant activity, *International Journal of Food Properties*, 20, pp. 2280-2293.
- Zeledon, R y Wan Fuh J. 1994. El cultivo de la guayaba Cañas Guanacaste, Costa Rica. p. 37