

BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA



DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA-ALIMENTOS



TESIS:

**EFFECTO DE LA ADICIÓN DE EXTRACTOS NATURALES PARA RETARDAR
LA OXIDACIÓN DEL PURÉ DE AGUACATE (*Persea americana* L.)**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

LICENCIADO EN QUÍMICO FARMACOBIOLOGO

PRESENTA:

p.Q.F.B. GUADALUPE TEYSSIER TÓNIX

DIRECTOR DE TESIS:

D. C. CARLOS ENRIQUE OCHOA VELASCO

CO-DIRECTOR (A):

D.C. PAOLA HERNÁNDEZ CARRANZA

OCTUBRE 2018

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE TABLAS	5
ÍNDICE DE FIGURAS	6
AGRADECIMIENTOS.....	8
RESUMEN	9
INTRODUCCIÓN.....	10
1. JUSTIFICACIÓN	11
2. OBJETIVOS	12
3. ANTECEDENTES.....	13
3.1 Aguacate (<i>Persea americana</i> L.).....	13
3.1.1 Origen, cultivo y producción.....	13
3.1.2 Morfología y composición del aguacate.....	15
3.1.3 Subproductos derivados del aguacate	16
3.2 Jamaica (<i>Hibiscus sabdariffa</i> L.)	16
3.2.1 Generalidades.....	16
3.2.2 Cultivo, producción y composición.....	17
3.2.3 Subproductos derivados de la flor de jamaica.....	18
3.2.4 Aplicaciones de extractos de jamaica	18
3.3 Tuna (<i>Opuntia ficus-indica</i>).....	19
3.3.1 Descripción y características.....	19
3.3.2 Requerimientos agro-climáticos, producción y composición	20
3.4 Naranja (<i>Citrus sinensis</i> L.).....	21
3.4.1 Características botánicas, producción y composición química.....	21
3.5 Extractos naturales	22
3.5.1 Métodos de extracción.....	22

3.5.2	Condiciones de extracción.....	23
3.6	Oxidación en los alimentos	24
3.6.1	Definición	24
3.6.2	Mecanismos de oxidación	25
3.7	Polifenoloxidasa.....	25
3.7.1	Definición	25
3.7.2	Importancia de su inhibición	26
3.8	Antioxidantes	26
3.8.1	Características	27
3.8.2	Aplicación de antioxidantes en alimentos	27
4.	DIAGRAMA DE TRABAJO	28
5.	MATERIAL Y MÉTODOS.....	29
6.	METODOLOGÍA	30
6.1	Técnicas de antioxidantes.....	32
6.1.1	Técnica de cuantificación de antocianina por diferencial de pH	32
6.1.2	Capacidad antioxidante.....	32
6.1.3	Compuestos fenólicos totales	33
6.1.4	Flavonoides totales.....	33
6.2	Determinación de la actividad enzimática de Polifenoloxidasa (PPO)	33
7.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	35
7.1	Análisis de los compuestos bioactivos y capacidad antioxidante de los extractos siguiendo el diseño de mezclas cúbico especial.....	35
7.2	Análisis de los coeficientes de regresión y la correlación entre datos experimentales y predichos de compuestos bioactivos de extractos de jamaica, naranja y tuna.	36
7.3	Evaluación del efecto de jamaica, cáscara de naranja y tuna sobre las concentraciones de compuestos bioactivos y capacidad antioxidante.....	38

7.4	Análisis de las gráficas de superficie de respuesta, en la optimización de la extracción de compuestos bioactivos.....	41
7.5	Análisis de la actividad de la polifenoloxidasas en puré de aguacate.....	44
8.	CONCLUSIONES	47
9.	SUGERENCIAS	48
10.	BIBLIOGRAFÍA	49

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación taxonómica del aguacate.	13
Tabla 2. Principales países productores de aguacate.	14
Tabla 3. Principales países productores de jamaica	17
Tabla 4. Métodos y referencias utilizados	29
Tabla 5. Equipos utilizados	29
Tabla 6. Diseño experimental de mezclas cúbico especial utilizando jamaica, naranja y tuna.....	31
Tabla 7. Resultados de los compuestos antioxidantes siguiendo el diseño de mezclas cúbico especial.....	37
Tabla 8. Coeficientes de regresión de la extracción de compuestos bioactivos y capacidad antioxidante de jamaica, cáscara de naranja y tuna siguiendo un diseño cúbico especial....	38
Tabla 9. Actividad de la enzima polifenoloxidasa en puré de aguacate después de 1 hora de almacenamiento.....	45

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Partes del fruto del aguacate.....	15
Figura 2. Correlación lineal de los datos predichos vs experimentales de la extracción de compuestos fenólicos de la jamaica, cáscara de naranja y tuna, siguiendo el diseño de mezclas.....	39
Figura 3. Correlación lineal de los datos predichos vs experimentales de la extracción de flavonoides totales de la jamaica, cáscara de naranja y tuna, siguiendo el diseño de mezclas....	39
Figura 4. Correlación lineal de los datos predichos vs experimentales de la extracción de antocianinas totales de la jamaica, cáscara de naranja y tuna, siguiendo el diseño de mezclas....	40
Figura 5. Datos predichos vs experimentales de la determinación de la capacidad antioxidante de jamaica, cáscara de naranja y tuna siguiendo un diseño de mezclas.	40
Figura 6. Optimización de la extracción de compuestos fenólicos de jamaica (X_1), cáscara de naranja (X_2) y cáscara de tuna (X_3), representados por gráficas de superficie de respuesta del diseño de mezclas cúbico especial.	42
Figura 7 Optimización de la extracción de flavonoides totales de jamaica (X_1), cáscara de naranja (X_2) y cáscara de tuna (X_3), representados por gráficas de superficie de respuesta del diseño de mezclas cúbico especial.	42
Figura 8. Optimización de la extracción de antocianinas totales de jamaica (X_1), cáscara de naranja (X_2) y cáscara de tuna (X_3) representados por gráficas de superficie de respuesta del diseño de mezclas cúbico especial	43
Figura 9. Optimización de la determinación de la capacidad antioxidante de jamaica (X_1), cáscara de naranja (X_2) y cáscara de tuna (X_3), representados por gráficas de superficie de respuesta del diseño de mezclas cúbico especial.	43
Figura 10. Medición de la actividad de la polifenoloxidasas en puré de aguacate con y sin extracto después de 1 hora de almacenamiento.....	45
Figura 11. Pastas de aguacate sin extracto a diferentes tiempos.	46

Figura 12. Efecto de la adición del extracto de jamaica puro al aguacate, a diferentes
tiempos..... 46

AGRADECIMIENTOS

Gracias a Dios por esta oportunidad que me da para cumplir una meta más, por siempre estar a mi lado y bendecirme con todas las personas que pone en mi camino, por su amor que fortalece en los momentos más difíciles.

Gracias a mi mamá por la vida, por su inmenso amor y apoyo incondicional. Por ser mi ejemplo de superación, lucha y felicidad; por confiar en mí. Por compartir mis alegrías, tristezas e incluso locuras. Gracias por ser padre y madre.

Gracias a mis primos y a mis tíos por su cariño y alegría que me brindan, por su paciencia y aguante. Gracias a mis angelitos que nos cuidan desde el cielo: mi primita y mis abuelos; los amo y guardo en mi corazón.

Gracias a mis amigos y compañeros, por los momentos divertidos que compartimos, por darme ánimos para que siguiera adelante, por sus consejos, por estar a mi lado. Gracias hermana del alma C., gracias hermanita I.

Gracias al doctor Carlos Enrique Ochoa Velasco y a la doctora Paola Hernández Carranza por la oportunidad de trabajar en este proyecto, porque gracias a esta oportunidad pude ampliar mi panorama sobre la licenciatura y conocer el área maravillosa de bioquímica de alimentos, gracias por su comprensión, por compartirme sus conocimientos, apoyo y sobre todo por su paciencia para guiarme. Gracias al doctor Raúl y a la doctora Sol, por sus enseñanzas y su apoyo.

RESUMEN

La generación de nuevos alimentos a partir de residuos agroindustriales ofrece alternativas económicas y ecológicas, porque se aprovechan elementos trazas presentes en ellos. Por ejemplo, las cáscaras de naranja y tuna son ricas en compuestos bioactivos con capacidad antioxidante, principalmente. La jamaica es un cultivo de gran importancia en México, posee diversas aplicaciones y es considerada una planta medicinal. Por otra parte, el aguacate es uno de los frutos más comercializados en el mundo, ocupa el cuarto lugar de producción a nivel mundial; por su contenido nutricional se usa principalmente para el consumo humano, pero es un fruto con un elevado oscurecimiento enzimático causado por la polifenoloxidasas presente, esto afecta no sólo su aspecto físico y sensorial; sino también su valor nutricional, por lo que resulta importante retardar su oxidación. Debido a lo anterior, el objetivo de este estudio fue obtener extractos a partir de flor de jamaica, cáscara de naranja y tuna utilizando un modelo de mezclas cúbico especial, para cuantificar el contenido de compuestos bioactivos y la capacidad antioxidante, con la finalidad de seleccionar la mejor combinación para aplicarla al puré de aguacate y retardar su oxidación. Como resultado se obtuvo que el extracto de jamaica puro, mostró las mayores concentraciones de compuestos fenólicos, antocianinas y capacidad antioxidante; la mezcla de jamaica-naranja (67%, 33%) respectivamente, mostró mayores concentraciones de flavonoides totales y la adición de cáscara de tuna no favoreció la concentración de compuestos bioactivos ni la capacidad antioxidante. El extracto de jamaica puro logró retardar el oscurecimiento del puré de aguacate, después de 4 horas posteriores a su adición.

INTRODUCCIÓN

Una de las industrias más importantes a nivel mundial es la industria alimentaria, ya que genera alimentos en cantidades suficientes para abastecer las necesidades de la población, mejora los alimentos en sabor, textura e incluso valor nutricional; a pesar de esto, una desventaja que sigue causando preocupación es la generación de residuos agroindustriales que impacta negativamente a la salud pública, al medio ambiente y a la economía de las empresas y productores. En México se generan alrededor de 42 millones de toneladas de residuos sólidos urbanos al año, de los cuales los residuos orgánicos (cuero, fibra dura vegetal, residuos alimenticios, hueso, residuos de jardinería, madera y aceite comestible) constituyen poco más del 38% (SEMARNAT, 2016).

Una forma de reducir este impacto negativo es emplear estos residuos como materia prima de nuevos productos generando un ingreso económico adicional a la industria. Algunos residuos alimenticios son las cáscaras de frutas como la naranja y la tuna que contienen compuestos bioactivos o fitoquímicos que pueden aprovecharse para su consumo. La cáscara de naranja conserva pigmentos carotenoides, polifenoles, proteínas, carbohidratos, fibra, minerales, vitaminas y lípidos (USDA, 2016). Mientras que la cáscara de tuna tiene elevada concentración de betalaínas, polifenoles y vitamina C (Alba-Jiménez *et al.*, 2014) que le confieren una alta capacidad antioxidante. Por otra parte, la jamaica es un cultivo muy valorado, debido a que de ella se obtienen extractos útiles en la industria alimenticia y farmacéutica. Posee un alto contenido de antocianinas (color rojo) y otros compuestos fitoquímicos como los fenoles, flavonoides, ácido ascórbico y β -caroteno que son responsables de su acción antioxidante (Sumaya *et al.*, 2014).

Por otra parte, el consumo de aguacate es altamente recomendado debido a los diferentes beneficios que aporta a la salud (ácidos grasos monoinsaturados). Uno de los productos derivados del aguacate más consumido en México es el guacamole, el cual es de fácil preparación y tradicional en platillos. Sin embargo, es un fruto altamente oxidable, por lo que es un reto evitar o retardar la aparición del oscurecimiento. Por lo tanto, este trabajo pretende evaluar la adición de extractos naturales individuales y en combinación como agentes antioxidantes de puré de aguacate.

1. JUSTIFICACIÓN

Durante el procesamiento de los alimentos se genera una gran cantidad de residuos, que si no son tratados de manera adecuada pueden generar diferentes problemas a la sociedad. Sin embargo, el uso de residuos agroindustriales es algo cada vez más utilizado con la finalidad de reducir la contaminación, obtener beneficios económicos al productor y sobre todo se ha probado que muchos de estos residuos contienen una serie de compuestos fitoquímicos con gran potencial en la industria alimentaria. Actualmente las personas buscan que lo que consuman sea más natural y al mismo tiempo aporte beneficios a la salud. Investigaciones recientes demuestran que los extractos naturales obtenidos muchas veces con “residuos agroindustriales” pueden ser empleados en las industrias como alternativas para conservar las propiedades de los alimentos, debido a que poseen antioxidantes. En este sentido, se pueden utilizar estos extractos para poder procesar alimentos con alta capacidad de oxidación, como lo es el aguacate y sus derivados, el cual, hasta el momento sigue siendo un reto debido a que presenta un alto oscurecimiento. Es por eso que el presente trabajo tiene la finalidad de aprovechar los residuos agroindustriales para elaborar extractos naturales que sean agentes protectores de la oxidación en el aguacate.

2. OBJETIVOS

Objetivo general

Evaluar el efecto de la adición de extractos naturales para retardar la oxidación del puré de aguacate (*Persea americana* L.).

Objetivos específicos

- Evaluar los compuestos bioactivos y capacidad antioxidante del polvo de jamaica, cáscara de naranja y tuna.
- Seleccionar la combinación de polvo de jamaica, cáscara de naranja y tuna con mayor contenido de compuestos bioactivos y capacidad antioxidante utilizando un diseño de mezclas cúbico.
- Evaluar la adición de extractos naturales seleccionados sobre las características físicas (color) y enzimáticas del puré de aguacate.

3. ANTECEDENTES

3.1 Aguacate (*Persea americana* L.)

3.1.1 Origen, cultivo y producción

El aguacate tiene como su centro de origen a América; se considera que la especie que dio origen al aguacatero proviene de la zona montañosa situada al occidente de México y Guatemala. Su distribución natural va desde México hasta Perú, pasando por Centro América, Colombia, Venezuela y Ecuador. Sin embargo, a partir de pruebas arqueológicas encontradas en Tehuacán (Puebla, México), con una antigüedad de 12.000 años, se ha determinado esta región como su centro de origen (Bernal y Díaz, 2008). La Tabla 1 presenta la clasificación taxonómica del aguacate.

Tabla 1. Clasificación taxonómica del aguacate. Adaptado por Bernal y Díaz, (2008).

Reino	Vegetal
División	Spermetophyta
Subdivisión	Angiospermae
Clase	Dicotyledoneae
Subclase	Dipétala
Orden	Ranales
Familia	Lauraceae
Genero	<i>Persea</i>
Especie	<i>Persea americana</i> Miller, <i>Persea gratissima</i> Gaerth, <i>Persea drymifolia</i> Blake.

Las tres razas de aguacate conocidas difieren en las exigencias climáticas. La raza mexicana, es originaria de tierras altas con altitudes de 2400 y 2800 msnm, es muy resistente al frío pudiendo soportar temperaturas mínimas hasta de 2.2°C. La raza guatemalteca es originaria de altitudes entre los 800 y 2400 msnm. Puede ser considerada subtropical y ser cultivada en regiones donde las temperaturas mínimas medias sean superiores a los 4.5°C. La raza antillana es originaria de las zonas bajas con altitudes inferiores a los 800 msnm y son

exigentes en calor, ubicando los índices térmicos comprendidos entre 22 y 26°C, óptimo con tendencia al déficit 18 a 22°C y óptimo con tendencia al exceso, temperaturas medias mayores de 26°C. En relación con la humedad, todas exigen clima húmedo o semihúmedo, preferiblemente con estaciones secas y lluviosas bien definidas. La raza mexicana es la que tolera mejor la sequedad atmosférica, siguiendo en orden decreciente la guatemalteca y la antillana (Rodríguez, 2003). El aguacate (*Persea americana* Mill.) es la cuarta fruta más importante en el mundo. La Tabla 2 muestra los principales países productores de aguacate en el mundo.

Tabla 2. Principales países productores de aguacate.

País	Producción (%)
México	36.80
Estados Unidos	7.93
Colombia	5.56
Indonesia	5.03
República Dominicana	4.30
Chile	4.26
Brasil	3.45
Israel	3.32
Otros	29.35

FAO, (2004)

México es el primer productor mundial con un volumen mayor a 1.62 millones de toneladas en 2015 (SIAP, 2016). Esta joya mexicana se cosecha en 28 entidades del país, pero es Michoacán el líder en producción ya que aporta tres cuartas partes (un millón 457 mil toneladas) del total (SIAP, 2017). En el estado de Puebla se cosechan anualmente aproximadamente 3 mil 285 ha, con lo que se logra una producción de 17 mil 787 toneladas; por esta producción estimada Puebla ocupa el 7° lugar a nivel nacional. Algunos de los municipios que producen aguacate en el estado de Puebla son: Quimixtlán, Tochimilco, Chichiquila, Atlixco, Tepexi de Rodríguez, Huaquechula, Tianguismanalco, Cohuecan,

Ocoyucan e Izúcar de Matamoros, por mencionar algunos de sus 43 municipios productores (SAGARPA, 2017).

3.1.2 Morfología y composición del aguacate

El fruto del aguacate es una baya que deriva de un gineceo unicarpelar y que contiene una sola semilla. El pericarpio consiste de tres capas: el exocarpio que comprende la cáscara, el mesocarpio pulposo que es la porción comestible de la fruta, y una capa interna delgada junto a la cubierta de la semilla que corresponde al endocarpio (Dueñas, 2016). La Figura 1 presenta las partes del aguacate.

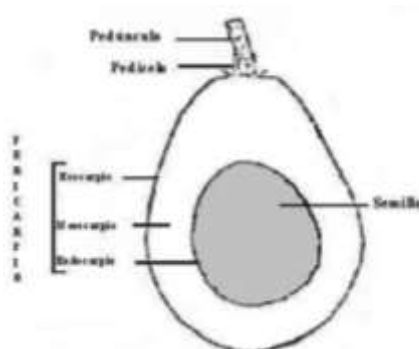


Figura 1. Partes del fruto del aguacate (Dueñas, 2016).

La forma del fruto varía según la raza, siendo esferoide, elipsoide, obovado-angosto, obovado, claviforme, romboide, periforme, ovoide o globoso. El color de la cáscara cuando está maduro puede ser verde, verde claro, verde oscuro, amarillo, anaranjado claro, rojo, púrpura, negro o la mezcla de los anteriores; el color de la pulpa puede ser marfil, amarillo, amarillo claro, amarillo intenso, verde claro y verde, entre otros (DANE, 2015).

El aguacate es un fruto con alto contenido de aceite, el cual representa el 15.4% del contenido total del fruto (Dueñas, 2016). Su valor calórico es elevado con respecto a otras frutas, se caracteriza por el contenido de ácidos grasos insaturados siendo mayoritariamente monoinsaturados (72% ácido oleico) los cuales reducen la tasa de colesterol total en la sangre. Es rico en vitamina E, ácido ascórbico, vitamina B6, β -caroteno, potasio y magnesio. Es un fruto de gran valor para la obtención de productos alimenticios, farmacéuticos, grasas, colorantes, fibra, proteínas, minerales, por su alto contenido de vitaminas A y B y ciertas

vitaminas liposolubles poco frecuentes en otros frutos (Ceballos y Montoya, 2013). El aceite de aguacate contiene los siguientes ácidos grasos: mirístico, palmítico, palmitoleico, esteárico, oleico, linoleico principalmente (Alvizouri y Rodríguez, 2009).

3.1.3 Subproductos derivados del aguacate

El índice de cultivo de aguacate ha crecido en todo el mundo durante las últimas décadas, en el 2008 cerca del 5% de aguacate fue destinado a la producción de guacamole, generando aproximadamente 20,000 toneladas de residuos. La razón principal de esto es que la cáscara (exocarpio) y las semillas corresponden hasta el 30% del peso total de la fruta y al no ser utilizadas para el consumo se desechan generando residuos orgánicos (González-Fernández *et al.*, 2015). Gracias a sus características sensoriales, alto contenido de grasas insaturadas, vitaminas y otros nutrientes, el aguacate es utilizado principalmente para el consumo humano. Usualmente se comercializa en fresco o transformado en productos diversos como: guacamole, salsa, condimentos y aceite. De manera particular, el aceite de aguacate es también empleado en la industria cosmética. Entre los posibles productos que podrían derivarse de cáscaras y semillas están: polifenoles, sustancias antimicrobianas, almidón, pigmentos y harinas con uso potencial por las industrias de alimentos, cosmética y farmacéutica. Compost y suplementos animales para el sector agropecuario. Biocombustibles como biodiesel y bioetanol en la industria energética y compuestos activos para la remoción de contaminantes del agua, con la aplicación en el sector ambiental (Muñoz y Rojas, 2016).

3.2 Jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.)

3.2.1 Generalidades

La jamaica es una planta arbustiva, anual de rápido desarrollo; puede alcanzar una altura desde 2.0 hasta 3.5 m con forma de cuña. Es un arbusto subleñoso, con tallo rojizo, con epidermis carmenada, cuyo color también se ve en las hojas, en los cálices y botones de las flores (Caro *et al.*, 2012). Originaria de África tropical, desde Egipto y Sudán hasta Senegal, aunque, debido a sus propiedades medicinales, se cultiva con éxito en México, América Central, Sur América, y sudeste asiático, incluido el sur de China. Es propia de climas secos subtropicales, montañosos, de matorral espinoso (Arévalo, 2012).

3.2.2 Cultivo, producción y composición

La jamaica puede ser cultivada en regiones con una altitud de 200 y 400 msnm, de clima cálido, con una temperatura entre 25°C y 30°C (Vallecillo y Gómez, 2004). De acuerdo con Arévalo (2012) la *Hibiscus sabdariffa* se adapta mejor a suelos rojos, cálidos y poco profundos; siendo los arcillosos menos aptos para este cultivo. La época de siembra en regiones áridas y semiáridas puede iniciarse en mayo o en junio para cosechar en octubre. Las fechas de secado de los cálices recolectados después de la cosecha coinciden con el cese de las lluvias y el advenimiento de las épocas de verano (Ramírez y Nicholls, 2014).

México cuenta con una producción de casi 7 mil toneladas de jamaica, entre los principales estados productores destacan Guerrero, Oaxaca, Michoacán y Nayarit; siendo el estado de Guerrero el principal productor, se cultiva a manera de tradición cultural principalmente en los municipios de Tecoaapa, Ayutla, Juan R. Escudero y San Marcos (SAGARPA, 2016). La Tabla 3 muestra los principales países productores de jamaica.

Tabla 3. Principales países productores de jamaica.

País	Producción (t)
China	27,200
India	17,550
Sudán	8,920
Uganda	8,230
Indonesia	6,100
Malasia	5,420
México	5,030
Otros países (Filipinas, Taiwán, Guinea, Angola, Estados Unidos, Nigeria, El Salvador, Guatemala, Senegal, entre otros)	19,525

SAGARPA-COFUPRO-CONACyT, (2010)

Entre los compuestos más abundantes de los cálices de la flor de jamaica se encuentran ácidos orgánicos, compuestos glucósidos y fenólicos como las antocianinas, a las cuáles se le otorgan la mitad de toda la acción antioxidante de la planta. Los compuestos fenólicos son reconocidos por su actividad preventiva contra enfermedades ocasionadas por el estrés oxidativo como problemas cardiovasculares, diabetes y cáncer, son de gran importancia porque pueden ayudar a elevar las defensas y la respuesta inmune de las personas que las padecen (Ramírez y Nicholls, 2014). La composición en los cálices de jamaica varía de acuerdo a la variedad, color y diferencias genéticas. Poseen contenido importante de proteína, fibra cruda y ácido ascórbico. Con respecto al contenido de aminoácidos, los cálices aportan la mayoría de aminoácidos esenciales, excepto el triptófano (Cid-Ortega y Guerrero-Beltrán, 2012).

3.2.3 Subproductos derivados de la flor de jamaica

El desarrollo de alimentos funcionales con actividad antioxidante a base de flor de jamaica ha beneficiado su comercialización, no sólo como cálices secos, sino como un ingrediente o excipiente de alto valor para la industria alimentaria. La flor de jamaica se utiliza para el desarrollo de productos como licor, mermelada, jarabe, jalea, ate, extracto, harina para galletas y bebida refrescante. También se ha usado en la elaboración de productos de panificación y repostería debido a su contenido de fibra, calcio y hierro (Sumaya *et al.*, 2014). En general una de las aplicaciones más comunes es en la elaboración de bebidas refrescantes a partir de extractos acuosos. La medicina tradicional los recomienda para enfermedades del riñón y vías urinarias, pero también son usados como bactericidas, antimicóticos, hipocolesterolémicos, antiespasmódicos, diuréticos, uricosúricos, laxativos, antihipertensivos, antiinflamatorios, antimutagénicos e inmunomoduladores (Ramírez-Cortés *et al.*, 2011). La flor de jamaica, por su fibra y cálices, se emplea asimismo en la manufactura de cordajes y canastas. Las antocianinas extraídas de las flores secas de jamaica son pigmentos naturales en la medicina y en la industria de alimentos (Marín y Mejía, 2012).

3.2.4 Aplicaciones de extractos de jamaica

Daramola y Asunni (2006) estudiaron el efecto de adicionar extractos acuosos de jamaica en la masa para preparar pizzas; utilizaron dos concentraciones del extracto (3 y 12.5 %) y las

compararon con una masa control (sin extracto acuoso de jamaica). Los resultados que obtuvieron, mostraron una concentración mayor de proteína, cenizas, hierro, calcio y grasa en pizzas con extracto de jamaica; se hizo hincapié en las concentraciones de hierro ya que aportaron 1.050 g/g y 1.965 g/g respectivamente. Hubo una disminución en las concentraciones de fibra cruda y carbohidratos. También se determinaron los valores de peróxidos de las muestras; observándose la inhibición de la peroxidación en las muestras adicionadas con extracto en comparación con la peroxidación alta de la muestra sin extracto. Por lo que los autores concluyen que la adición de extracto de jamaica a los aperitivos fritos aumenta el estado nutricional y disminuye la peroxidación.

En otro estudio realizado por Iwalokun y Shittu (2007) “Efecto del extracto *Hibiscus sabdariffa* (cálices) sobre las propiedades bioquímicas y organolépticas del yogurt” utilizaron dos marcas de yogur bajos en grasa, y el extracto de jamaica se adicionó antes y después de la fermentación, demostrando que la incorporación de extracto de jamaica en yogur bajo en grasa disminuye el tiempo de coagulación; los autores sugieren que compuestos presentes en la jamaica interactúan con componentes de la fermentación para acelerar la formación del cuajo. Sin embargo, el análisis sensorial de las muestras adicionadas con extracto de jamaica obtuvo menor aceptabilidad en general cuando se compararon con las muestras sin extracto. En base a esto los autores indican la necesidad de mejorar los atributos sensoriales del yogur adicionado con extracto de jamaica.

3.3 Tuna (*Opuntia ficus-indica*)

3.3.1 Descripción y características

La tuna es una baya ovalada o piriforme, carnosa, de dimensiones variables, contiene muchas semillas y su cáscara es semidura con espinas (Velázquez, 2012). La cáscara, pulpa y semillas constituyen alrededor del 33 al 50%, 45 al 67% y del 2 al 10% del peso total del fruto, respectivamente (Ochoa-Velasco y Guerrero- Beltrán, 2010). Dentro de las especies que conforman el género *Opuntia* se encuentran: *O. albicarpa*, *O. ficus-indica*, *O. megacantha*, *O. cochinera* y *O. robusta* var *Robusta*. (Figueroa-Cares *et al.*, 2010). Las cactáceas son plantas arbustivas o arborescentes, de 1.7 – 3 m de altura, con un tallo primario lignificado, bien definido. Tallo castaño oscuro, verde o gris, cilíndrico, de 45 cm de largo, a 20 cm de

diámetro (Reyes-Agüero *et al.*, 2005). Los tallos suculentos y articulados o cladodios, comúnmente llamados pencas, presentan forma de raqueta ovoide o alongada y cuando miden 10-12 cm son tiernos y se pueden consumir como verdura. Sobre ambas caras del cladodio se presentan las yemas, llamadas aréolas, que tienen la capacidad de desarrollar nuevos cladodios, flores y raíces, según las condiciones ambientales. Las flores son sésiles, hermafroditas y solitarias, se desarrollan normalmente en el borde superior de las pencas. Su color es variable: hay rojas, amarillas, blancas, entre otros colores (Sáenz *et al.*, 2007).

3.3.2 Requerimientos agro-climáticos, producción y composición

Los suelos deben ser de textura franca, franco arcilloso arenosa, arenosos, franco arenoso, con pH 6.5–8.5. Los mejores suelos para las plantaciones de tuna son los de origen calcáreo con textura arenosa, con buen drenaje, profundidad media y con un pH neutro o de preferencia alcalino. El cultivo de tuna deberá ser accesible y cercano a una fuente de agua con el fin de obtener mejores rendimientos (Robles, 2009). El rango térmico para esta especie es de 6-36°C, con un óptimo de 18 y 20°C. La temperatura media para el nopal oscila entre 18 y 26°C. El nopal puede mantenerse vivo aún a temperaturas de 65°C, mientras la exposición no sea por más de 1 hora. Por otro lado, esta especie muere cuando se presentan heladas de -5 a -8°C (SEDEA, 2003).

En México se reconocen alrededor de 23 variedades de tunas comestibles, agrupando a las tunas blancas, púrpuras, rojas, anaranjadas y amarillas. La producción de tuna en nuestro país registra un volumen superior a las 400,000 toneladas. Los estados de mayor producción incluyen a Puebla, Estado de México, Hidalgo, Zacatecas, Guanajuato y San Luis Potosí (Sumaya-Martínez *et al.*, 2010). Con una producción anual de 80, 000 toneladas Puebla ocupa el primer lugar en exportación de tuna a países como Estados Unidos, Europa y Canadá (SAGARPA, 2014).

La composición química de la tuna consiste de 85% de agua, 14% de azúcares y 1% de proteína. En la pulpa los compuestos bioactivos encontrados en mayor cantidad son vitamina C, vitamina E y polifenoles (Sumaya-Martínez *et al.*, 2010). Es buena fuente de calcio y magnesio; contiene altos niveles de prolina y taurina. Los ácidos que se reportan son ácido

cítrico, ácido málico, ácido quínico y ácido shikímico (Ochoa-Velasco y Guerrero-Beltrán, 2010).

3.4 Naranja (*Citrus sinensis* L.)

La naranja Valencia, *Citrus sinensis* (L.) Osbeck, es una especie que pertenece a la familia Rutaceae, subfamilia Aurantoideae, género *Citrus*, el cual se divide en los subgéneros *Citrus* y *Papeda*, con la diferencia que este último presenta gotas agrias de aceite en las vesículas de la pulpa. Estos frutos, tienen la particularidad de que su pulpa está formada por numerosas vesículas llenas de jugo. Presentan un color anaranjado, al que deben su nombre, aunque algunas especies son casi verdes cuando están maduras. Su sabor varía desde el amargo hasta el dulce (Hernández, 2014).

3.4.1 Características botánicas, producción y composición química

La naranja es una especie subtropical que no presenta resistencia al frío, ya que tanto las flores como los frutos no toleran dichas condiciones. Necesita temperaturas cálidas durante el verano para la correcta maduración de los frutos. Es una especie ávida de luz para los procesos de floración y fructificación, que tienen lugar preferentemente en la parte exterior de la copa y faldas del árbol (EARTH, 2004). En las zonas tropicales los cítricos se producen entre los 23 y 34 °C, con pluviosidades entre 900 y 1200 milímetros de lluvias anuales. En lo referente a las características agroquímicas del suelo, este debe tener un contenido satisfactorio de fósforo y de potasio, asimilables por las raíces de los árboles (DANE, 2016). En cuanto a suelos los prefiere arenosos o franco-arenosos, profundos, frescos y sin caliza, con pH comprendido entre 6.0 y 7.0. No tolera la salinidad, aunque la utilización de patrones supone una solución a este problema (EARTH, 2004).

Durante los últimos diez años se destinó al cultivo de este fruto un promedio de 341 mil hectáreas, con un crecimiento promedio anual de 0.2%. En 2007 la cosecha del cítrico fue de cuatro millones 104 mil 556 toneladas, lo que ubicó al país como cuarto productor en el mundo, superado por Brasil, Estados Unidos e India. Veracruz es el estado líder en la producción del fruto, con más de la mitad del total nacional (2.1 millones de toneladas), Puebla se encuentra en el tercer lugar con 254,841 toneladas (SIAP-SAGARPA, 2009).

El material de desecho de los cítricos está constituido principalmente por cáscaras, semillas y membranas capilares a partir de los cuales se pueden obtener harinas cítricas, pectina cítrica, aceites esenciales, pigmentos; así como compuestos bioactivos: fibra y polifenoles, especialmente flavonoides (Rincón *et al.*, 2005). Las flavanonas, flavonas y flavonoles son los flavonoides presentes en los cítricos. Las flavanonas son las responsables de los sabores amargos en los cítricos, siendo la naringina y la neohesperidina los componentes mayoritarios (Moreno *et al.*, 2004).

3.5 Extractos naturales

Un extracto es una mezcla compleja, con multitud de compuestos químicos, obtenible por procesos físicos, químicos y/o microbiológicos a partir de una fuente natural; pudiéndose utilizar en cualquier campo de la tecnología (Pardo, 2002).

3.5.1 Métodos de extracción

La extracción es un paso muy importante para la obtención de compuestos bioactivos, a partir de matrices vegetales. Existen diferentes métodos de extracción; los métodos convencionales como la extracción sólido-líquido, han sido muy utilizados; ya que muchas veces se obtienen mayores rendimientos y no son muy costosos (Carrión y García, 2010.; Dueñas, 2017). A continuación, se dará una breve descripción de los métodos de extracción.

1. Extracción convencional (sólido-líquido): el proceso de extracción de muestras sólidas con solventes (orgánicos) capaces de disolver la muestra, generalmente es conocido como extracción sólido-líquido, en el que se recuperan compuestos solubles mediante difusión desde una matriz sólida hacia una matriz líquida; siendo éste un método muy utilizado en la recuperación de compuestos fenólicos a partir de residuos agroindustriales.
2. Extracción asistida por ultrasonido (EAU): en este proceso, la vibración se propaga en el medio transportando energía mecánica en forma de rápidas variaciones de presión. El medio de propagación de la onda ultrasónica se somete a una sucesión de compresiones y descompresiones, provocando la formación de burbujas. Los efectos mecánicos del ultrasonido inducen una mayor penetración del solvente en las matrices vegetales y mejoran la transferencia de masa. También pueden causar ruptura de las paredes

celulares, facilitan la difusión del solvente y la solubilización de los compuestos encontrados al interior de la célula, facilitando la liberación del contenido celular.

3. Percolación: es un método que consiste en que el menstro (generalmente alcohólico o mezcla hidroalcohólica) atraviesa la masa pulverizada siempre en un solo sentido, alcanzando concentraciones crecientes de tal modo que el equilibrio entre el solvente dentro y fuera del marco nunca se alcanza, por lo que la masa bañada siempre por nuevas proporciones de menstro acaba por ceder todos sus componentes solubles de manera progresiva.
4. Maceración: se entiende por maceración al contacto prolongado durante cierto tiempo del sólido con el menstro constituyendo un conjunto homogéneamente mezclado en el cual el menstro actúa simultáneamente sobre todas las proporciones del sólido, circulando a través en todas las direcciones y sentidos; disolviendo sus principios activos hasta producirse una concentración en equilibrio con la del contenido celular.
5. Decocción: llamada también cocimiento, este procedimiento consiste en llevar a la mezcla de sólido más menstro a la temperatura de ebullición del agua, manteniendo esta temperatura durante un período variable que suele oscilar de 15 a 30 minutos.

3.5.2 Condiciones de extracción

La capacidad antioxidante de una mezcla no viene dada solo por la suma de las capacidades antioxidantes de cada uno de sus componentes; también depende del microambiente en el que se encuentra el compuesto; de tal manera que pueden interactuar causando efectos sinérgicos como inhibitorios (Kuskoski *et al.*, 2005).

Los factores más relevantes a tomar en cuenta para la extracción de metabolitos en plantas y frutas son los siguientes:

- A. Temperatura: un incremento en la temperatura favorece la extracción de compuestos fenólicos, puesto que incrementa la solubilidad del soluto y del mismo modo el coeficiente de difusión. Asimismo, mejora la penetración del solvente hacia los tejidos vegetales, lo cual favorece la liberación de compuestos fenólicos (Dueñas, 2017).
- B. Tiempo de extracción: existe un incremento gradual del contenido de fenoles totales cuando se aumenta el tiempo de extracción, sin embargo, después de cierto tiempo

determinado, los posteriores aumentos de la concentración de los mismos, ya no son significativos (Dueñas, 2017). La concentración de antocianinas totales aumenta cuando el tiempo de extracción es mayor; pero los aumentos posteriores sí son significativos (Gorriti *et al.*, 2009).

- C. Velocidad de agitación: la velocidad de agitación no influye en la concentración de compuestos fenólicos (Dueñas-Rivadeneira *et al.*, 2016).
- D. Relación sólido-líquido: la actividad antioxidante es dependiente de la concentración el extracto (Kuskoski *et al.*, 2005).
- E. Concentración del disolvente: a medida que se incrementa la concentración del disolvente en el caso de etanol, la concentración de compuestos fenólicos aumenta; sin embargo, las concentraciones efectivas se hayan en sistemas etanólicos al 50% (Dueñas, 2017; Alvis *et al.*, 2011). Para la extracción de antocianinas totales se recomienda soluciones hidroalcohólicas al 20-40% y pHs ácidos (Gorriti *et al.*, 2009).

3.6 Oxidación en los alimentos

3.6.1 Definición

La oxidación es uno de los procesos más importantes que ocurre en los sistemas alimentarios que se puede presentar durante la fabricación, almacenamiento, distribución y preparación final de los alimentos. Sucede cuando un átomo cede un electrón a otro átomo distinto, mediante el proceso de reducción (Badui, 2006). Afecta muchas interacciones entre los componentes de los alimentos, lo que conduce a obtener productos indeseables. Los lípidos son uno de los componentes más susceptibles a los procesos de oxidación, por lo tanto, las reacciones de oxidación son una de las mayores causas de deterioro (Wąsowicz *et al.*, 2004). Dentro de los inconvenientes que se presentan están: la disminución en la aceptabilidad de los alimentos por parte de los consumidores, al producir compuestos de bajo peso molecular, destrucción de nutrientes esenciales, producción de compuestos tóxicos, dímeros o polímeros de proteínas y lípidos limitando su vida útil, entre otros (Choe y Min, 2009).

3.6.2 Mecanismos de oxidación

Se han reconocido como tres mecanismos diferentes de oxidación, que forman diferentes productos: mecanismo de radicales libres, foto-oxidación y procesos relacionados con la actividad de lipooxigenasas (Wąsowicz *et al.*, 2004).

- La autooxidación es una reacción espontánea entre el oxígeno molecular con lípidos, que conduce deterioro oxidativo.
- Otro mecanismo de oxidación es la foto-oxidación, que ocurre en la presencia de un sensibilizador y luz UV. La foto-oxidación es una ruta alternativa que conduce a la formación de hidroperóxidos en lugar del mecanismo de radicales libres.
- El tercer mecanismo de oxidación está basado en la actividad de enzimas como la lipoxigenasa y polifenoloxidasas. La lipooxigenasa es una enzima que es una fuente muy importante de hidroperóxidos formados durante la extracción de aceites. Esta enzima produce sabores volátiles similares a los producidos durante la autooxidación.

3.7 Polifenoloxidasas

3.7.1 Definición

Las polifenoloxidasas (PPO) son miembros de las oxidoreductasas, pertenecientes a un conjunto de metaloenzimas que contienen cobre, que catalizan la oxidación de una gran variedad de compuestos fenólicos. Estas enzimas están ampliamente difundidas en la naturaleza, presente en bacterias, hongos, plantas y animales. La PPO es importante, ya que es responsable de la melanización del ojo, la piel, y el cabello; además del oscurecimiento en frutas y verduras (Güven *et al.*, 2017). En plantas, la PPO se encuentra en los cloroplastos, y sus sustratos fenólicos están principalmente en las vacuolas (Zhang y Shao, 2015).

La PPO cataliza la oxidación de polifenoles a *o*-quinonas en la presencia de oxígeno, las *o*-quinonas se polimerizan en pigmentos indeseables como marrón, rojo o negro. Estos pigmentos pueden afectar las cualidades sensoriales y nutricionales de frutas, restándole aceptación por el consumidor, ya que son despreciadas (Zhang y Shao, 2015). El nivel de actividad de PPO en la cosecha y su variación durante el almacenamiento de la fruta se han considerado importantes para la predicción de la susceptibilidad (Rocha y Morais, 2002).

3.7.2 Importancia de su inhibición

La degradación oxidativa de los compuestos presentes en alimentos como vitaminas, lípidos, carbohidratos, minerales, compuestos bioactivos, entre otros, es muy relevante en términos de calidad de frutos y vegetales, por la formación de melaninas que oscurecen los frutos (Rocha y Morais, 2002; Vanini *et al.*, 2010). Las reacciones de pardeamiento enzimático tienen muchas desventajas; ya que, además de presentar pérdidas económicas importantes para las industrias, afecta las propiedades organolépticas, el valor nutricional y la aceptación del producto (Gasull y Becerra, 2006).

Debido a esto, el estudio de la polifenoloxidasas ha sido de mucho interés en los últimos años; ya que esta es la principal enzima que causa el oscurecimiento en los alimentos. La prevención y control del pardeamiento enzimático, requiere un conocimiento bioquímico del tipo de sustratos fenólicos presentes en cada planta, del nivel de compuestos reductores, el nivel de accesibilidad del oxígeno, la naturaleza de los diferentes compuestos oxidables y la polimerización y degradación de las *o*-quinonas (Morante *et al.*, 2014). Actualmente, los productores de alimentos prefieren aditivos naturales, especialmente agentes antioxidantes libres de sulfitos, debido al peligro que presentan para la salud humana. Para que su eficacia sea máxima se realizan combinaciones de antioxidantes o con diversos agentes secuestradores de metal, y se logra una acción sinérgica que proporciona una protección más completa (Gil-Garzón *et al.*, 2012). De esta forma las industrias de alimentos han logrado mejores resultados para conservar sus alimentos y ofrecer al consumidor productos más confiables; que reúnan las características que demandan.

3.8 Antioxidantes

Los antioxidantes son inhibidores del proceso de oxidación, incluso a una concentración relativamente pequeña y, por lo tanto, tienen un papel fisiológico diverso en el cuerpo. Los componentes antioxidantes del material vegetal actúan como eliminadores de radicales libres, y ayudan a convertir los radicales en especies menos reactivas. Una variedad de antioxidantes que eliminan radicales libres se encuentra en fuentes dietéticas como frutas, verduras y té, etc. (Kumar, 2011).

3.8.1 Características

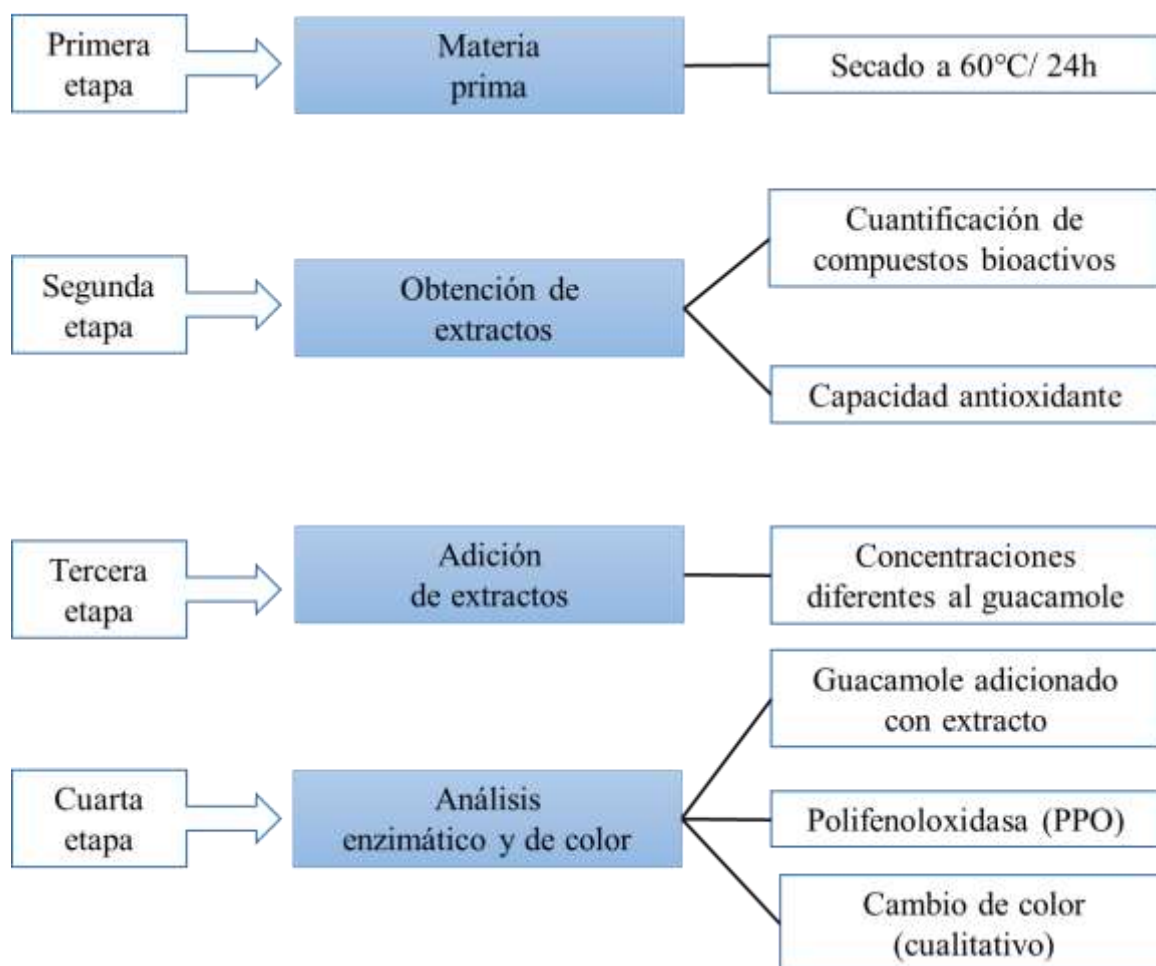
Como afirma Iglesias (2009) que no todas las sustancias con capacidad antioxidante desde el punto de vista químico pueden utilizarse como aditivos antioxidantes en un alimento; ya que además de su actividad para inhibir el deterioro oxidativo, deben cumplir una serie de requisitos, entre los que destacan: que deben ser inocuos, no deben modificar sensorialmente el alimento, deben ser efectivos a bajas concentraciones. Describe que la incorporación de un antioxidante al producto que se adiciona es un aspecto muy importante desde el punto de vista de su eficacia ya que, la actividad no depende exclusivamente de las propiedades químicas del mismo sino también de la accesibilidad o difusión hacia los puntos sensibles a la oxidación del alimento.

3.8.2 Aplicación de antioxidantes en alimentos

La importancia de utilizar antioxidantes en los alimentos no sólo se enfoca en prevenir el deterioro de los productos y mantener su valor nutrimental; también se busca que ofrezcan beneficios significativos a la salud. Estudios sobre la adición de antioxidantes naturales de frutas (tejidos de cereza) para estabilizar la carne molida, demuestran que suprimen la peroxidación lipídica e inhibe la formación de aminas aromáticas heterocíclicas y la oxidación del colesterol durante el proceso de fritura (Ochoa y Ayala, 2004). Jacobo-Velázquez *et al.*, (2013) demostraron que el extracto de tomillo tiene un poder inhibitorio sobre la actividad de la enzima lipooxigenasa (LOX) presente en el puré de aguacate; debido a los compuestos fenólicos (antioxidantes) presentes en los extractos naturales.

Los ácidos hidroxicinámicos y polifenoles procedentes de las uvas se aplicaron para inhibir la rancidez de alimentos enriquecidos en aceites de pescado y de alimentos que tienen como base el músculo de pescado. Los resultados obtenidos mostraron una eficacia significativa de los ácidos hidroxicinámicos (ácido cafeico principalmente); inhibiendo la oxidación de aceites y músculo de pescado (Medina, 2010). Los alimentos vegetales son ricos en fibra, de manera que es posible desarrollar a partir de ellos fibras dietéticas antioxidantes; por ejemplo, el desarrollo de fibra antioxidante de uva (FAU), que combina en un solo producto los efectos de la fibra y los antioxidantes naturales (Saura-Calixto, 2010).

4. DIAGRAMA DE TRABAJO



5. MATERIAL Y MÉTODOS

- Material de vidrio necesario para cada determinación.
- Material biológico: flor de jamaica, cáscara de naranja, cáscara de tuna, y aguacate.
- Reactivos necesarios para cada determinación

Tabla 4. Métodos y referencias utilizados

Determinación	Técnica	Referencia
Antocianinas	Diferencial de pH	Ochoa-Velasco <i>et al.</i> , 2017
Capacidad antioxidante	Espectrofotometría	Hernández-Carranza <i>et al.</i> , 2016
Fenoles totales	Espectrofotometría	Hernández-Carranza <i>et al.</i> , 2016
Flavonoides totales	Espectrofotometría	Hernández-Carranza <i>et al.</i> , 2016
PFO	Espectrofotometría	Ochoa-Velasco y Guerrero-Beltrán, 2013

Tabla 5. Equipos utilizados

Equipo	Marca	Modelo
Balanza analítica	OHAUS®	PA313
Bomba de vacío	Felisa®	FE-1500
Baño maría	Yamato®	BM-100
Centrífuga	SOLBAT® J-40	100005506
Deshidratador	Excalibur®	3926TB
Espectrofotómetro UV-visible	Spectronic®	Spectronic 20 Genesys
Molino	BRAUN UL®	KSM2(4)
Parrilla de agitación	Cimarec®	S46725
Potenciómetro	Conductronic®	pH 10
Motor de rotación variable	Yamato®	RE200
Tamizador	MEINZER II SIEVE SHAKER®	MEINZER II
Vórtex	IKA®Vortex 3	140011124

6. METODOLOGÍA

Primera etapa: recolección de materia prima, procesamiento y almacenamiento.

Se obtuvo la flor de jamaica comercial de un mercado de la ciudad de Chiautla de Tapia, Puebla, la cáscara de tuna se obtuvo de la localidad de San Sebastián Villanueva, Puebla. Se utilizaron los residuos de naranja que generó el puesto ambulante de jugos ubicado entre la avenida San Claudio y el Boulevard 18 sur en la colonia San Manuel, Puebla, Puebla. Posteriormente las cáscaras (naranja y tuna) se lavaron y desinfectaron con hipoclorito de sodio comercial, usando 1 mL (7 gotas) por cada litro de agua potable, se cortaron en trozos pequeños. La flor de jamaica y las cáscaras se sometieron a un proceso de secado (60°C/24h) en el deshidratador Escalibur®, en seguida se trituraron con ayuda de un molino marca BRAUN UL®, se utilizó un tamizador calibrado, marca MEINZER II SIEVE SHAKER® para obtener partículas de diferente tamaño (75, 150, 180, 300, 450 y 600 μm). Finalmente se almacenaron en frascos ámbar; en ausencia de luz.

Segunda etapa: obtención de extractos a partir de flor de jamaica, cáscara de naranja y tuna.

Se combinaron dos tamaños de partícula (180 y 300 μm) a partir de los polvos obtenidos. Para la obtención de extractos se colocó en un matraz cubierto con papel aluminio 0.1 g de polvo de materia prima (flor de jamaica, cáscara de naranja y tuna), ajustando las cantidades en base al diseño experimental de mezclas (Tabla 6). Se añadieron 50 mL de etanol puro; la mezcla se agitó a 60 rpm durante 24 h usando una parrilla de agitación magnética marca Cimarec®, a temperatura ambiente. Los extractos obtenidos se filtraron con algodón y se usaron inmediatamente para la determinación de compuestos bioactivos y capacidad antioxidante.

Tabla 6. Diseño experimental de mezclas cúbico especial utilizando jamaica, cáscara de naranja y tuna.

Corrida	Jamaica	Naranja	Tuna
1	1	0	0
2	0.67	0.33	0
3	0.67	0	0.33
4	0.33	0.67	0
5	0.33	0.33	0.33
6	0.33	0	0.67
7	0	1	0
8	0	0.67	0.33
9	0	0.33	0.67
10	0	0	1
11	0.33	0.33	0.33
12	1	0	0
13	0	0	1
14	0	1	0

Se seleccionó el extracto con mayor concentración de compuestos bioactivos y capacidad antioxidante, el cual se sometió a un proceso de destilación utilizando un rotavapor marca Yamato®. Se obtuvo el extracto concentrado, para su posterior aplicación al puré de aguacate.

Con el fin de evaluar la eficacia de las mezclas de flor de jamaica, cáscara de naranja y tuna, se obtuvo un modelo matemático (Ecuación 1), con la ayuda del programa Design Expert 6.0 Inc para diseñar mezclas cúbicas especiales; se ajustó a los datos experimentales utilizando la regresión lineal de los parámetros evaluados para cada mezcla. A continuación, se presenta la Ecuación 1 que define lo anterior.

$$Y = \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_4 X_1 X_2 + \beta_5 X_1 X_3 + \beta_6 X_2 X_3 + \beta_7 X_1 X_2 X_3$$

Donde Y= respuesta; β =coeficientes de regresión, X_1 = jamaica; X_2 = naranja; X_3 = tuna

Tercera etapa: Adición de extractos al aguacate.

Se utilizó la parte comestible del aguacate para realizar un puré con ayuda de un mortero. El extracto seleccionado fue el de jamaica puro; una vez concentrado, se suspendió en agua destilada, haciendo diferentes diluciones (tratamientos); tomando 100, 200, y 400 μL de extracto; en 900, 800 y 600 μL de agua destilada.

Cuarta etapa: Análisis enzimático y de color

Se determinó la actividad de la enzima polifenoloxidasasa (PPO) del puré de aguacate adicionado con los diferentes tratamientos del extracto seleccionado, se utilizó puré sin extracto como control. Se determinó la actividad enzimática directo y después de una hora de almacenamiento. Para el análisis del color de manera cualitativa, se colocó el puré de aguacate en cuatro placas Petri (5 g de puré en cada placa). Posteriormente se adicionaron los diferentes tratamientos del extracto de jamaica puro, dejando una sin extracto (control); mezclando bien para incorporar el extracto. Se almacenaron a temperatura ambiente sin tapadera, tomando fotografías a cada media hora, durante 4 horas de exposición, para evaluar el cambio de color.

6.1 Técnicas de antioxidantes

6.1.1 Técnica de cuantificación de antocianina por diferencial de pH: se tomaron 5 mL del extracto y se modificó el pH con NaOH 4M y HCl al 10, 25 y 50% (p/v), hasta alcanzar un pH de 1.0 y 4.5. La absorbancia se evaluó a 520 y 700 nm usando un espectrofotómetro. La concentración de antocianinas totales se calcula mediante un modelo matemático y se expresa en mg de cianidina/100 mg de muestra.

6.1.2 Capacidad antioxidante: se basa en la estabilidad del radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH). Se realizó una dilución del extracto obtenido, en un tubo de ensayo, tomando 250 μL de extracto en 750 μL de etanol puro, posteriormente a esta dilución se le adicionó 1 mL de reactivo DPPH. Se mezcló perfectamente, dejando reposar la reacción por 30 minutos en ausencia de luz; se agitó antes de leer. La lectura

se realizó a 517 nm. Para el blanco se sustituyó el DPPH por etanol puro. La capacidad antioxidante fue reportada como mg de Trolox/100 g de muestra.

6.1.3 Compuestos fenólicos totales: se basa en la reducción del reactivo Folin-Ciocalteu. A 1 mL de extracto (500 μ L de extracto en 500 μ L de etanol puro) se le adicionó 1 mL de reactivo de Folin-Ciocalteu 0.1 M en un tubo de ensayo. La mezcla se dejó en reposo por 3 minutos a temperatura ambiente en la oscuridad y se agitó en un vórtex durante 15 segundos a baja velocidad. Pasado este tiempo, a la mezcla anterior se le adicionó 1mL de Na_2CO_3 al 0.5%. La mezcla se dejó reposar 30 minutos y se agitó por 15 segundos antes de leer en el espectrofotómetro. La absorbancia se leyó a 765 nm. Para el blanco se sustituyó el reactivo Folin-Ciocalteu por agua destilada. El contenido de fenoles totales fue calculado como mg de equivalentes de ácido gálico (EAG)/ 100 g de muestra.

6.1.4 Flavonoides totales: este método consiste en formar un complejo de aluminio-flavonoide. A 0.5 mL de extracto se le agregó 0.5 mL de NaNO_2 al (1.5%) en un tubo de ensayo; en ausencia de luz. La mezcla se agitó por 5 minutos en un vórtex a temperatura ambiente. A esta mezcla se le agregó 1ml de AlCl_3 al (3%) y se agitó por 1 minuto a temperatura ambiente. Pasado este tiempo a la mezcla se le adicionó 1 mL de NaOH (1 N) y se agitó por 1 minuto a temperatura ambiente y velocidad media y se midió la absorbancia a 490 nm. Para el blanco se sustituyó el AlCl_3 al (3%) por agua destilada. Los flavonoides totales se calcularon usando catequina como estándar, según la metodología informada por Hernández-Carranza *et al.*, (2016).

6.2 Determinación de la actividad enzimática de Polifenoloxidasas (PPO)

Se determinó siguiendo la técnica propuesta por Ochoa-Velasco y Guerrero Beltrán (2013) con modificaciones. Se tomaron 5 g de pulpa de aguacate y se mezclaron con 5 mL de buffer McIlvaine (pH 6.5). La mezcla (extracto enzimático) se centrifugó a 4000 rpm durante 10 minutos. Se quitó el remanente de aguacate que quedó y se filtró. En una celda de cuarzo, se mezclaron 0.5 mL del filtrado, 1 mL de solución de catecol (0.175 M) y 2 mL de buffer citrato-fosfato (McIlvaine). Se midió la absorbancia a 420 nm usando un espectrofotómetro UV-Visible, cada 10 segundos durante 3 minutos. Se graficó la absorbancia con respecto al tiempo; para determinar la actividad de la PPO.

Una unidad de actividad enzimática (UAE) de pectinmetilesterasa se define como la cantidad de enzima que se requiere para producir un cambio de absorbancia de 0.001 Uabs/min*g (o mL). Se empleó la Ecuación 2 para la determinación de la unidad enzimática.

Ecuación 2

$$UAE = \frac{m * 60 * V}{v * 0.001 * g}$$

Donde m= la pendiente (Uabs/s); V= volumen total muestra y el buffer (mL), v= volumen de extracto enzimático involucrado en la reacción (mL) y g = cantidad de muestra (g).

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1 Análisis de los compuestos bioactivos y capacidad antioxidante de los extractos siguiendo el diseño de mezclas cúbico especial

En la Tabla 7 se presenta el contenido de compuestos bioactivos (compuestos fenólicos, flavonoides y antocianinas totales) así como la capacidad antioxidante de los extractos obtenidos a partir de jamaica, cáscara de naranja y tuna, siguiendo un diseño de mezclas cúbico especial. Como se observa, el extracto de jamaica (1:0:0) presenta la mayor concentración de compuestos fenólicos, antocianinas y capacidad antioxidante comparado con los otros extractos obtenidos. Lo anterior puede deberse a que el pigmento principal de la jamaica es una antocianina (compuesto fenólico) con una alta capacidad antioxidante, este pigmento se encuentra ampliamente distribuido en flores y frutos con tonalidades que van desde el rosa hasta el morado (Salinas-Moreno *et al.*, 2012). En un estudio realizado por Ochoa-Velasco *et al.* (2017) sobre extractos de jamaica encapsulados con goma de mezquite; reportaron valores de 8230-10920 mg trolox / 100 g de cálices de jamaica, para la capacidad antioxidante; mientras que los valores de la capacidad antioxidante reportados en este estudio para el extracto de jamaica (100%) son considerablemente inferiores; con valores de 24.29-25.94 mg trolox/ 100g de cálices de jamaica. Por otra parte, la mezcla jamaica-naranja (0.67:0.33) presenta la mayor concentración de flavonoides totales, lo cual puede deberse a la antocianina y la quercetina presentes en la jamaica y naranja, respectivamente (Ochoa y Ayala, 2004). La capacidad antioxidante obtenida en este estudio a partir de los extractos de cáscara de naranja (100%) fue de 3.05-6.42 mg trolox/ 100g de cáscara de naranja; valores considerablemente inferiores que lo reportado en un estudio llevado a cabo por Hernández-Carranza *et al.* (2016), donde informaron valores de 505-894 mg trolox/100g de cáscara de naranja. Lo anterior puede deberse a la polaridad de los disolventes utilizados en cada estudio; así como a las condiciones de extracción, ya que, en ese estudio se optimizó el proceso de extracción. De manera general, el extracto de tuna es el que presentó menor cantidad de compuestos fenólicos, flavonoides totales y antocianinas, lo cual se puede deber a que la tuna presenta otro tipo de compuestos antioxidantes (betalainas) los cuales no fueron cuantificados en este estudio; sin embargo, la capacidad antioxidante fue similar a la del extracto de naranja. La capacidad antioxidante para el extracto de cáscara de tuna fue de 5.09-

9.26 mg trolox /100 g de cáscara de tuna siendo valores inferiores comparados con diferentes autores como Aparicio-Fernández *et al.*, (2017), donde informaron valores de 420.9 ± 4.9 mg EAG/ 100 g de cáscara de tuna. En otro estudio realizado por Ochoa y Guerrero (2012), informaron valores de 12.27-21.48 mg trolox/100 mL de jugo de tuna roja. Los diferentes valores para la capacidad antioxidante pueden atribuirse a la variación en los cultivares analizados y al origen geográfico de las frutas y flor analizadas (Aparicio-Fernández *et al.*, 2017).

7.2 Análisis de los coeficientes de regresión y la correlación entre datos experimentales y predichos de compuestos bioactivos de extractos de jamaica, naranja y tuna.

La Tabla 8 presenta los coeficientes de regresión del modelo de mezclas utilizado para evaluar el efecto de las proporciones de jamaica, naranja y tuna en la extracción de compuestos bioactivos y capacidad antioxidante. Todos los modelos fueron significativos (los experimentos son reproducibles) en la extracción de compuestos bioactivos y capacidad antioxidante. La mezcla de jamaica-naranja-tuna afectó negativamente la extracción de compuestos fenólicos, flavonoides y antocianinas totales, la mezcla de jamaica-tuna afectó negativamente la capacidad antioxidante, y el extracto de naranja afectó de manera negativa la extracción de antocianinas, debido a que este compuesto bioactivo no se encuentra presente en la cáscara de naranja.

Tabla 7. Resultados de los compuestos antioxidantes siguiendo el diseño de mezclas cúbico especial.

Corrida	Jamaica	Naranja	Tuna	Compuestos fenólicos (mg EAG/100 g)	Flavonoides (mg quercetina/100 g)	Antocianinas (mg cianidina/100 g)	Capacidad antioxidante (mg trolox/100g)
1	1	0	0	458.40	816.67	2.90	25.94
2	0.67	0.33	0	515.88	1150.00	2.70	18.23
3	0.67	0	0.33	396.13	803.85	2.44	19.74
4	0.33	0.67	0	415.29	752.56	1.14	13.30
5	0.33	0.33	0.33	380.17	784.62	1.09	13.94
6	0.33	0	0.67	397.73	726.92	1.18	12.32
7	0	1	0	309.91	393.59	0.00	6.42
8	0	0.67	0.33	495.13	1053.85	0.00	6.77
9	0	0.33	0.67	273.99	496.15	0.05	9.44
10	0	0	1	239.66	284.62	0.05	9.26
11	0.33	0.33	0.33	421.68	765.38	1.27	13.86
12	1	0	0	531.85	842.31	3.26	24.29
13	0	0	1	234.87	252.56	0.03	5.09
14	0	1	0	260.42	406.41	0.00	3.05

Tabla 8. Coeficientes de regresión de la extracción de compuestos bioactivos y capacidad antioxidante de jamaica, cáscara de naranja y tuna siguiendo un diseño cúbico especial.

Compuestos	Coeficientes de regresión							R ²
	β_1	β_2	β_3	β_4	β_5	β_6	β_7	
Compuestos fenólicos	490.7	298.6	228.2	319.1	168.5	545.2	-1431.6	0.78
Flavonoides	840.6	420.0	237.5	1444.5	1018.5	2008.1	-5971.2	0.83
Antocianinas	3.1	-0.1	0.0	1.7	1.0	0.1	-4.6	0.99
Capacidad antioxidante (x10 ³)	250.8	47.4	72.1	38.4	-5.2	95.9	33.0	0.98

β_1 = jamaica; β_2 = naranja; β_3 = tuna; β_4 = jamaica-naranja; β_5 = jamaica-tuna; β_6 = naranja-tuna; β_7 = jamaica-naranja-tuna.

7.3 Evaluación del efecto de jamaica, cáscara de naranja y tuna sobre las concentraciones de compuestos bioactivos y capacidad antioxidante

Las Figuras 2-5 muestran la correlación lineal entre los datos experimentales y predichos en la extracción de compuestos fenólicos (2), flavonoides totales (3), antocianinas totales (4) y la capacidad antioxidante (5) de jamaica, cáscara de naranja y tuna, siguiendo el diseño de mezclas cúbico especial. Se observa una buena correlación entre los datos originales y las predicciones realizadas por el modelo de todos los compuestos bioactivos; especialmente en la determinación de antocianinas totales y la capacidad antioxidante (Figuras 4 y 5 respectivamente). Esto se demuestra a través de los coeficientes de correlación lineal (Tabla 7), los cuales cuantifican la intensidad de la relación lineal entre dos variables (datos experimentales y predichos). Lo anterior es de gran relevancia, ya que ayuda a tener una mayor certeza para aplicar modelos matemáticos y evaluar el efecto de diferentes factores, en este caso: jamaica, cáscara de naranja y tuna; de esta manera se logra optimizar la extracción de compuestos bioactivos (Hernández-Carranza *et al.*, 2016).

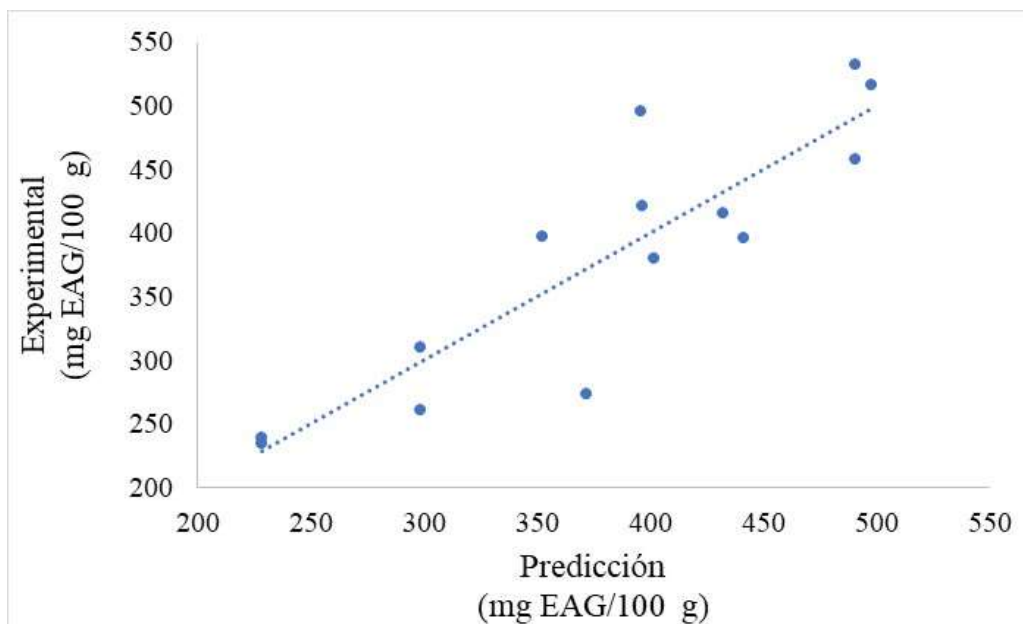


Figura 2. Correlación lineal de los datos predichos vs experimentales de la extracción de compuestos fenólicos de la jamaica, cáscara de naranja y tuna, siguiendo el diseño de mezclas.

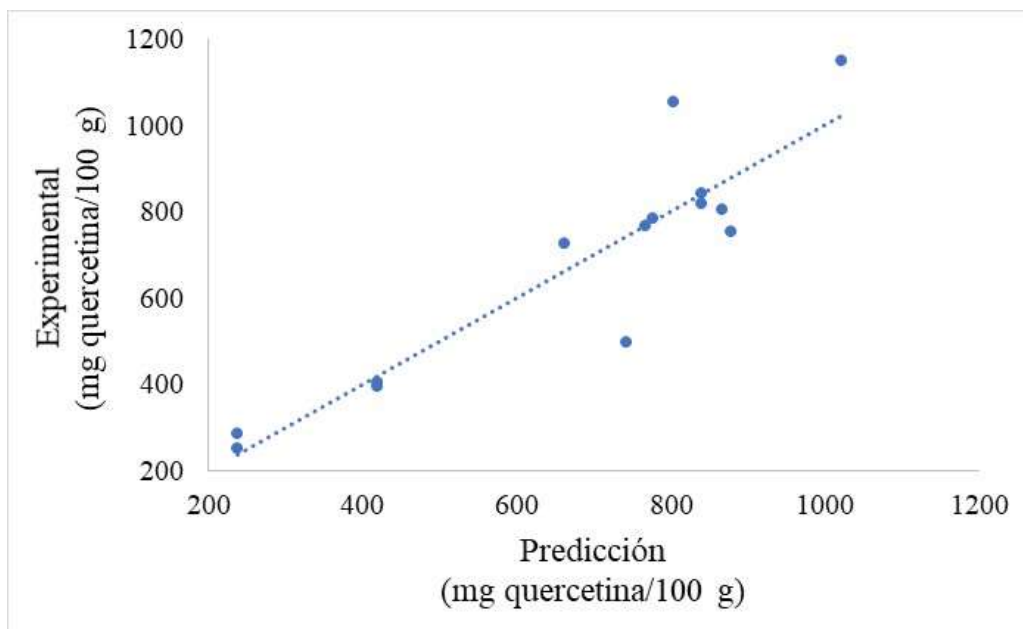


Figura 3. Correlación lineal de los datos predichos vs experimentales de la extracción de flavonoides totales de la jamaica, cáscara de naranja y tuna, siguiendo el diseño de mezclas.

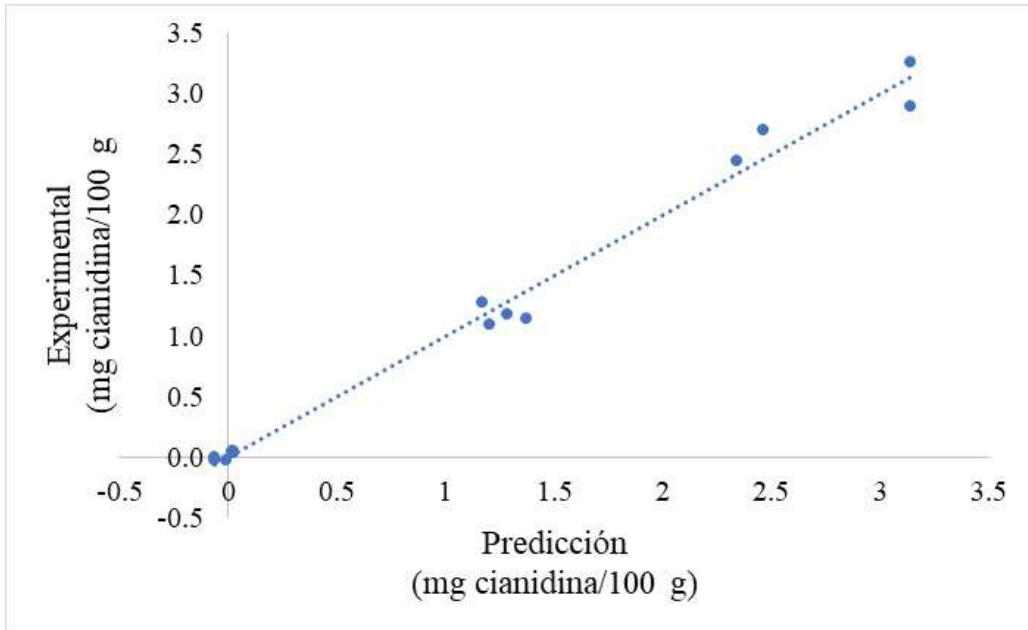


Figura 4. Correlación lineal de los datos predichos vs experimentales de la extracción de antocianinas totales de la jamaica, cáscara de naranja y tuna, siguiendo el diseño de mezclas.

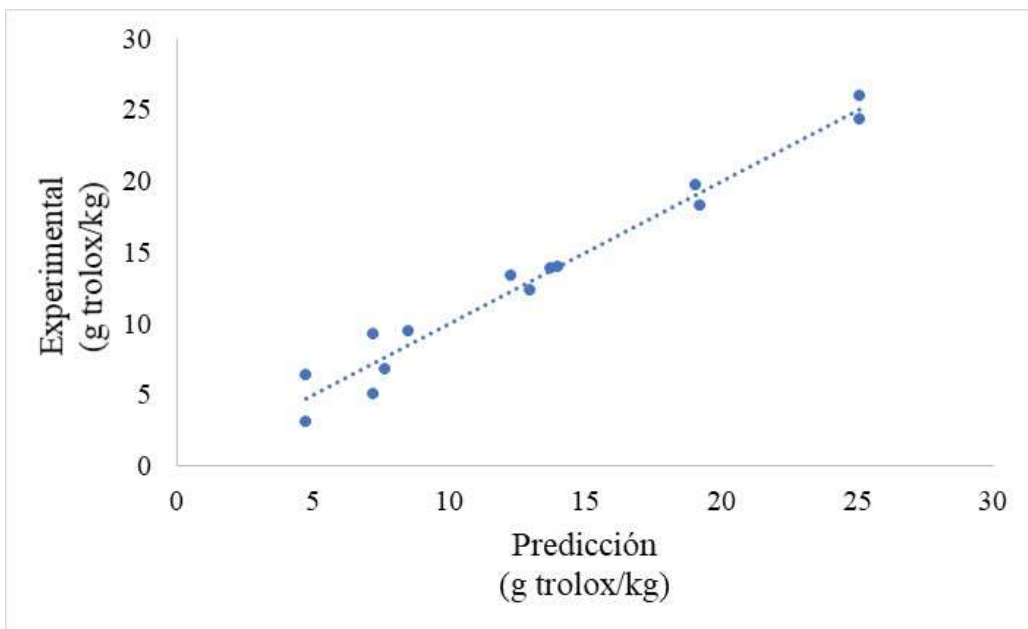


Figura 5. Correlación lineal de los datos predichos vs experimentales de la determinación de la capacidad antioxidante de jamaica, cáscara de naranja y tuna siguiendo un diseño de mezclas.

7.4 Análisis de las gráficas de superficie de respuesta, en la optimización de la extracción de compuestos bioactivos.

Las Figuras 6-9 muestran las gráficas de superficie de respuesta del diseño de mezclas para la extracción de compuestos bioactivos y capacidad antioxidante de la jamaica, cáscara de naranja y tuna. En ellos se analiza el efecto (la interacción) de los factores: jamaica, cáscara de naranja y tuna, sobre las concentraciones de compuestos bioactivos: compuestos fenólicos (6), flavonoides totales (7), antocianinas totales (8) y la capacidad antioxidante (9). Se observa que, a mayores concentraciones de jamaica el contenido de fenoles, y de antocianinas totales aumenta (Figuras 6, y 8); por consiguiente, la capacidad antioxidante también aumenta (Figura 9), esto puede deberse a las antocianinas presentes en la jamaica, las cuales pertenecen al grupo de los flavonoides, éstos a su vez son compuestos fenólicos; por lo que, existe una relación entre la cantidad de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante que presentan las frutas y flores (Porrás y López, 2009). Ocurre el efecto contrario con las cáscaras de naranja y tuna; debido a que estas no contienen antocianinas o las concentraciones son muy bajas (determinadas en este trabajo).

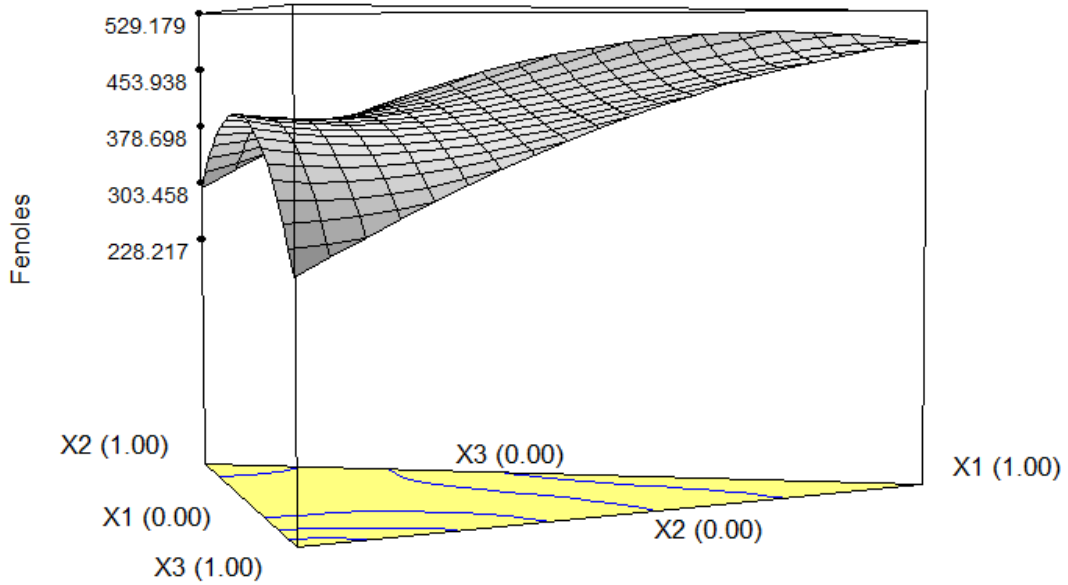


Figura 6. Optimización de la extracción de compuestos fenólicos (mg EAG/100 g) de jamaica (X_1), cáscara de naranja (X_2) y cáscara de tuna (X_3), representados por gráficas de superficie de respuesta del diseño de mezclas cúbico especial.

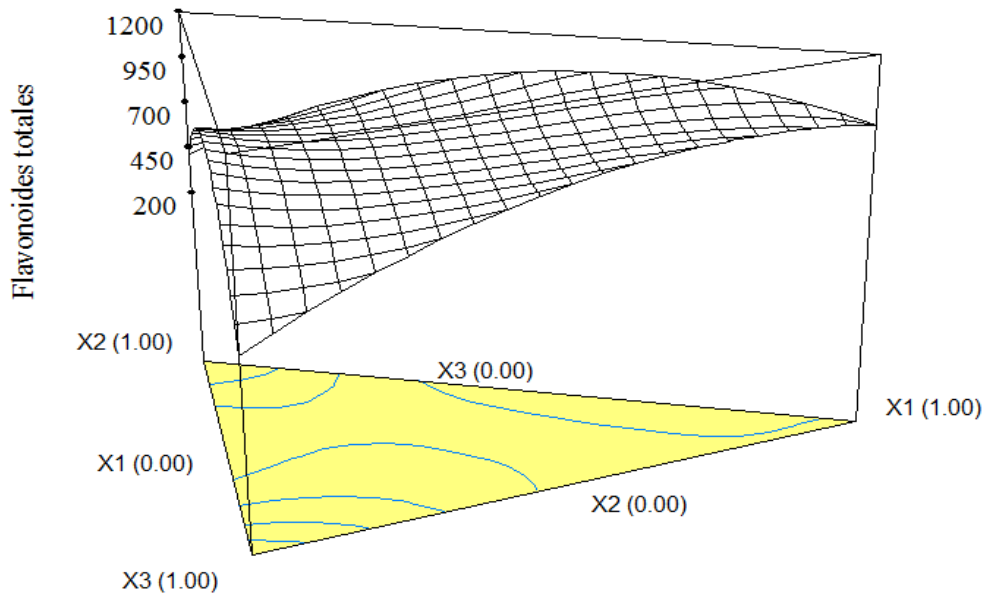


Figura 7. Optimización de la extracción de flavonoides totales (mg quercetina/100 g) de jamaica (X_1), cáscara de naranja (X_2) y cáscara de tuna (X_3), representados por gráficas de superficie de respuesta del diseño de mezclas cúbico especial.

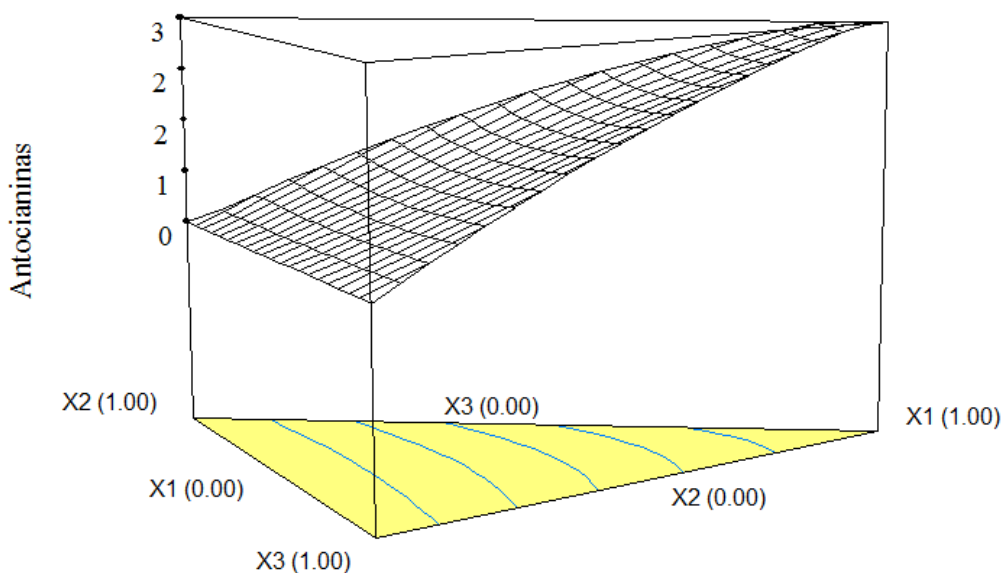


Figura 8. Optimización de la extracción antocianinas (mg cianidina/100 g) totales de jamaica (X_1), cáscara de naranja (X_2) y cáscara de tuna (X_3) representados por gráficas de superficie de respuesta del diseño de mezclas cúbico especial.

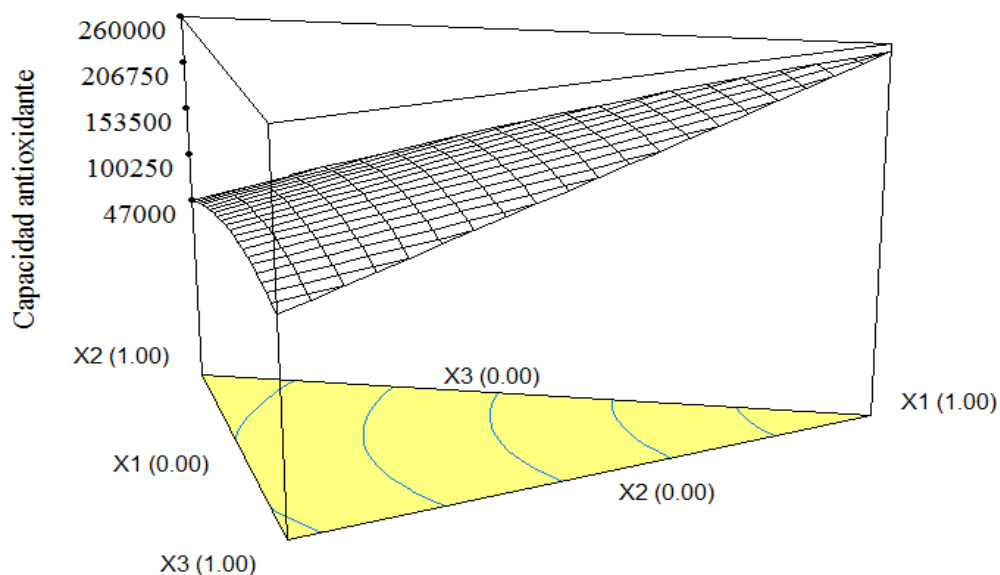


Figura 9. Optimización de la determinación de la capacidad antioxidante (mg trolox/100g) de jamaica (X_1), cáscara de naranja (X_2) y cáscara de tuna (X_3), representados por gráficas de superficie de respuesta del diseño de mezclas cúbico especial.

7.5 Análisis de la actividad de la polifenoloxidasas en puré de aguacate.

En la Figura 10 se presenta la medición de la actividad de la PPO en puré de aguacate con y sin extractos de jamaica. El puré sin extracto presentó la mayor actividad enzimática, seguida por los adicionados con tratamientos de 100 μ L, 200 μ L y 400 μ L. Todas siguen la misma cinética; pero se observa que al adicionar 400 μ L de extracto, la actividad de la PPO es afectada; pues al comienzo de la reacción (T_0) el valor de la actividad disminuye considerablemente, siendo cercano a cero; comparado con la actividad del puré sin extracto, que es mayor a 1. Esto indica que existe una relación entre la cantidad de extracto adicionado y la actividad de la enzima; si el extracto aumenta, la concentración de fenoles es mayor y la actividad enzimática disminuye; debido a que el contenido de sustrato es mayor para la enzima presente en el puré. En la Tabla 9 se reportan los valores de la actividad enzimática después de 1 hora de haber adicionado el extracto; el valor de la actividad aumentó con la adición de 100 μ L de extracto, por los fenoles del extracto. De igual manera el valor menor de la actividad enzimática fue con la adición de 400 μ L de extracto, por lo mencionado anterior. Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos utilizados para inhibir la actividad de la enzima polifenoloxidasas presente en el aguacate. Las Figuras 11 y 12 muestran el efecto de la adición del extracto de jamaica al color del aguacate. Se observa que la pasta de aguacate sin extracto después de 2 h de exposición comienza a perder el color verde (Figura 11 B) a comparación de la pasta adicionada con extracto de jamaica (Figura 12 B). La diferencia en el cambio de color fue más notoria después de 4 h de exposición; en donde se observa que la pasta sin extracto (Figura 11 C) presenta oscurecimiento; mientras que la pasta adicionada con extracto de jamaica (Figura 12 C) sigue conservando el color verde, similar al de la pasta con extracto después de 2 h de exposición. Esto puede deberse a los compuestos fenólicos presentes en el extracto de jamaica puro; ya que son antioxidantes y pueden actuar como un inhibidor de la enzima polifenoloxidasas, por ser quelantes del cobre presente en el sitio activo de la enzima.

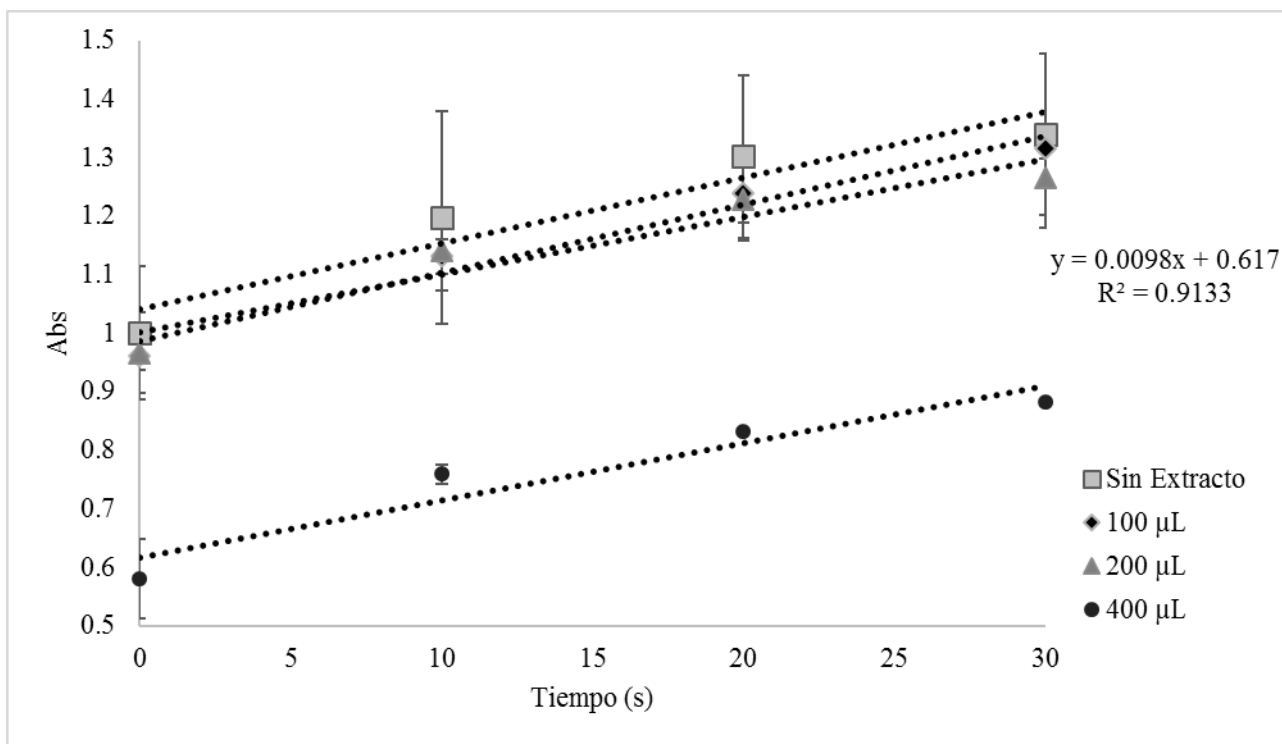


Figura 10. Medición de la actividad de la polifenoloxidasas en puré de aguacate con y sin extracto después de 1 hora de almacenamiento.

Tabla 9. Actividad de la enzima polifenoloxidasas en puré de aguacate después de 1 hora de almacenamiento.

Tratamiento (µL)	PPO (UAE/g)
0	1344 ± 34
100	1404 ± 34
200	1182 ± 59
400	1176 ± 204

Media ± desviación estándar

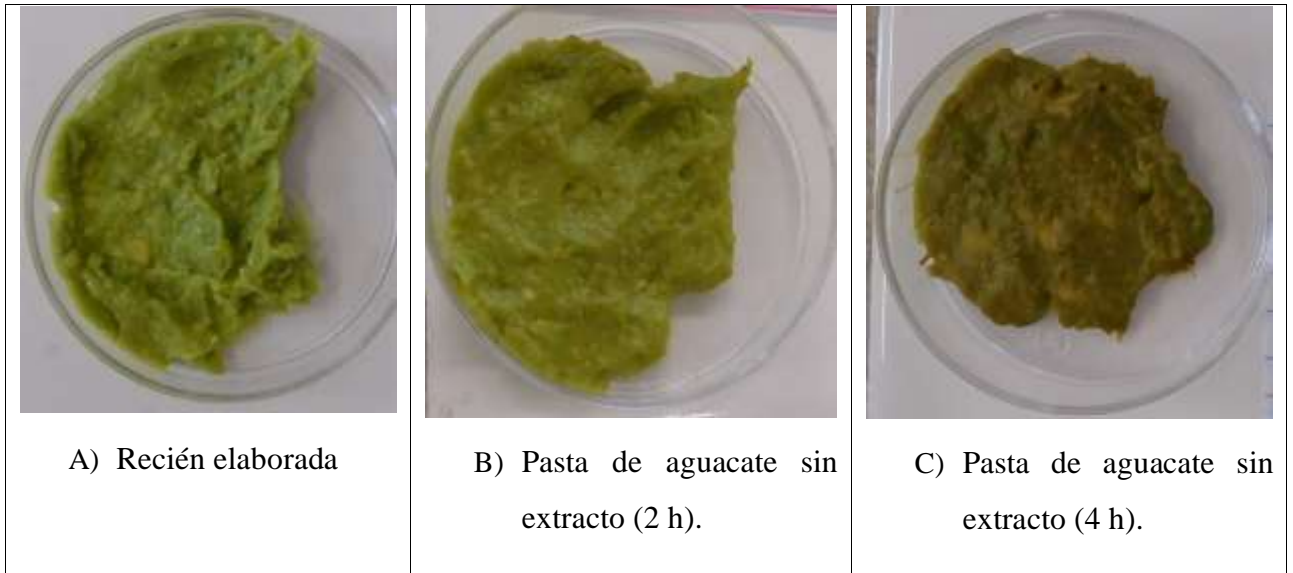


Figura 11. Pastas de aguacate sin extracto a diferentes tiempos.

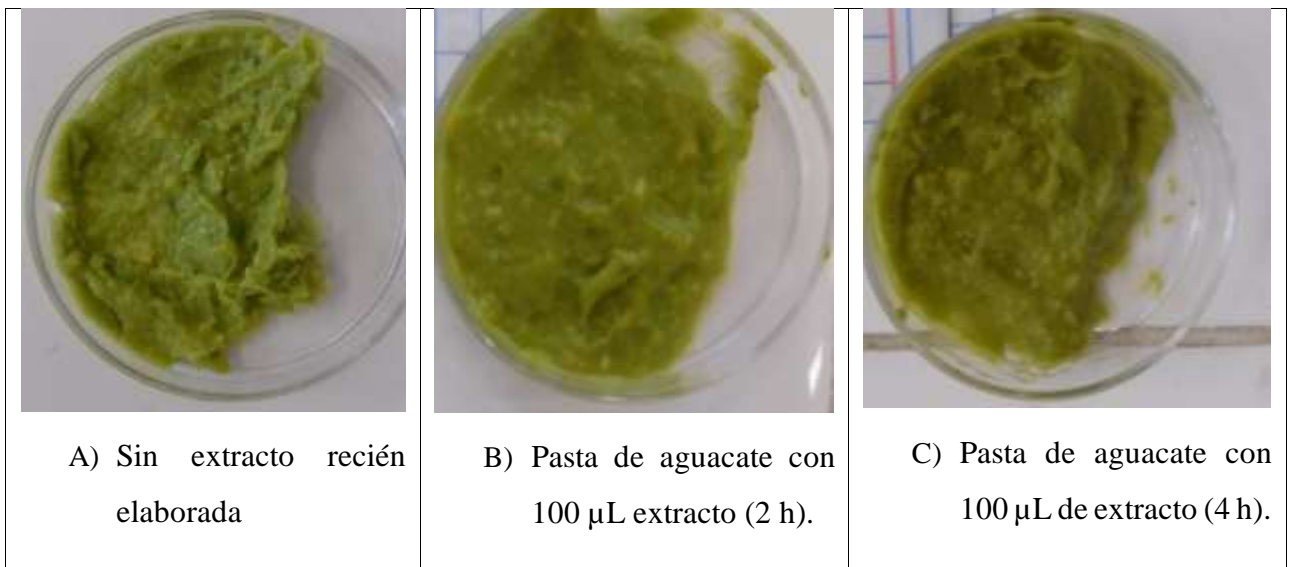


Figura 12. Efecto de la adición del extracto de jamaica puro al aguacate, a diferentes tiempos.

8. CONCLUSIONES

Los extractos naturales provenientes de residuos agroindustriales son buena fuente de compuestos bioactivos.

El contenido de antocianinas en los extractos de jamaica aportó mayor capacidad antioxidante que los compuestos bioactivos de la naranja y tuna roja.

El diseño de mezclas ayudó a optimizar la relación de los factores para la extracción de compuestos bioactivos y mostró una buena correlación de los datos obtenidos.

La adición del extracto de jamaica disminuyó la actividad de la enzima polifenoloxidasasa del aguacate; por los compuestos bioactivos presentes en el extracto, en consecuencia, retardó el oscurecimiento enzimático del puré durante 4 horas posteriores a su adición.

9. SUGERENCIAS

Se sugiere realizar un análisis sensorial del puré de aguacate adicionado el extracto de jamaica puro, para evaluar su aceptabilidad.

Se sugiere realizar extractos acuosos o hidroalcohólicos para comparar la capacidad de extracción de los solventes.

Se sugiere evaluar el extracto natural de jamaica en otros alimentos altamente oxidables.

10. BIBLIOGRAFÍA

Alba-Jiménez, J. E., Chávez-Servia, J. L., Verdalet-Guzmán I., Martínez, J. A. y Aquino-Bolaños, E. N. (2014). Betalaínas, polifenoles y actividad antioxidante en tuna roja mínimamente procesada, almacenada en atmósferas controladas. *Revista Gayana Botánica*. Vol. 71(2):222-226.

Alvis, A., Martínez, W. y Arrazola, G. (2011). Obtención de extractos hidro-alcohólicos de limoncillo (*Cymbopogon citratus*) como antioxidante natural. *Información Tecnológica*. Vol. 23(2):3-10.

Alvizouri, M. y Rodríguez, A. (2009). Efectos médicos del aguacate. *Medicina interna de México*. Vol. 25(5):379-85.

Aparicio-Fernández, X., Vega-Ahuatzin, A., Ochoa-Velasco, C. E., Cid-Pérez, S., Hernández-Carranza, P. y Ávila-Sosa, R. (2017). Physical and antioxidant characterization of edible films added with red prickly pear (*Opuntia ficus-indica* L.) cv. San Martín peel and/or its aqueous extracts. *Food Bioprocess Technol*. Vol. 11:368-379.

Arévalo, J. M. (2012). Propuesta de un extracto colorante a partir de *Hibiscus sabdariffa* (flor de jamaica) para ser utilizado en la industria textil. (tesis de pregrado). Universidad de El Salvador. San Salvador, El Salvador, Centro América.

Badui, S. (2006). *Química de los alimentos*, México, México, PEARSON Educación. p.283-284.

Bernal, J. A. y Díaz, C. A. (2008). Generalidades del cultivo en Tecnología para el cultivo del aguacate. *Produmedios*. Antioquia, Colombia, pp. 11-15.

Caro, F. J., Machuca, M. L. y Flores, E. P. (2012). El cultivo de jamaica en Nayarit. Tepic, Nayarit. México, p.4.

Carrión, A. V. y García, C. R. (2010). Preparación de extractos vegetales: determinación de eficiencia metódica. (tesis de pregrado). Universidad de Cuenca. Cuenca-Ecuador.

Ceballos, A. M. y Montoya, S. (2013). Evaluación química de la fibra en semilla, pulpa y cáscara de tres variedades de aguacate. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*. Vol. 11(1):103-112.

Choe, E. y Min, D. (2009). Mechanisms of antioxidants in the oxidation of foods. *Comprehensive reviews in food science and food safety*. Vol. 8:345-358.

Cid-Ortega, S. y Guerrero-Beltrán, J. A. (2012). Propiedades funcionales de la jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.). *Temas selectos de ingeniería de alimentos*. Vol. 6(2):47-63.

DANE. (2015). El cultivo de aguacate (*Persea americana* Miller.) fruta de extraordinarias propiedades alimenticias, curativas e industriales (Primera parte). Boletín mensual. Disponible en: https://www.dane.gov.co/files/investigaciones/agropecuario/sipsa/Bol_Insumos_oct_2015.pdf. Consultado: 31 de mayo de 2018.

DANE. (2016). El cultivo de la naranja Valencia (*Citrus sinensis* [L.] Osbeck) y su producción como respuesta a la aplicación de correctivos y fertilizantes y al efecto de la polinización dirigida con abeja *Apis mellifera*. Boletín mensual. Disponible en: https://www.dane.gov.co/files/investigaciones/agropecuario/sipsa/Bol_Insumos_oct_2016.pdf. Consultado: 3 de junio de 2018.

Dueñas, J. A. (2017). Optimización de las condiciones de extracción de compuestos fenólicos a partir de cáscara de uva variedad quebranta (Ica, Perú) empleando técnicas convencionales y extracción asistida por ultrasonido. (Tesis magister). Pontificia Universidad Católica del Perú escuela de posgrado. San Miguel, Lima-Perú.

Dueñas, R. (2016). Efecto de diferentes métodos de reducción de tamaño sobre la calidad sensorial del aguacate liofilizado. (Tesis maestría). Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del estado de Jalisco, A. C. Guadalajara, Jalisco.

Dueñas-Rivadeneira, A., Alcivar-Cedeño, U., Saco-Vera, E., Bravo-Sánchez, L. y Villanueva-Ramos, G. (2016). Determinación de condiciones de extracción de compuestos fenólicos a partir de *Chuquiraga Jussieuif*Gmel usando lixiviación de muestras sólidas.

Daramola, B. y Asunni, O. A. (2006). Nutrient composition and storage studies on roselle extract enriched deep-fat-fried snack food. *African Journal of Biotechnology*. Vol. 5(19):1803-1807.

EARTH. (2004). Centro para la formación empresarial. Perfil de producto Naranja 2004. Universidad EARTH. Costa Rica.

FAO. (2004). Avocado: Post-Harvest Operation.p.4 Disponible en <http://www.fao.org/3/a-au996e.pdf>. Consultado: 18 de febrero de 2018.

Figueroa-Cares, I., Martínez-Damián, M. T., Rodríguez-Pérez, E., Colinas-León, M. T., Valle-Guadarrama, S., Ramírez-Ramírez, S. y Gallegos-Vázquez, C. (2010). Contenido de pigmentos, otros compuestos y capacidad antioxidante en 12 cultivares de tuna (*Opuntia* spp.) de México. *Agrociencia*. Vol. 44:763-771.

Gasull, E. y Becerra, D. (2006). Caracterización de polifenoloxidasas extraídas de pera (cv. Packam's Triumph) y manzana (cv. Red Delicious). *Información Tecnológica*. Vol. 17(6):69-74.

Gil-Garzón, M. A., Rojano, B. A. y Guerrero, C. A. (2012). Inhibición de la polifenoloxidasas extraída del banano (*cavendish*) por medio de algunos derivados del isoespintanol. Corporación Universitaria Lasallista. p. 194-247.

González-Fernández, J. J., Galea, Z., Álvarez, J. M., Hormaza J., López, R. (2015). Evaluation of composition and performance of composts derived from guacamole production residues. *Journal of environmental management*. Vol. 147 (1):132-139.

Gorriti, A., Arroyo, J., Negron, L., Jurado, B., Purizaca, H., Santiago, I., Tapyte, 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*. Vol. 8(6):509-518.

Güven, R., Güven, K., Bekler, F., Acer, O., Alkan, H., Dogru, M. (2017). Purification and characterization of polyphenol oxidase from purslane. *Food Science and Technology*. Vol. 37(3):356-362.

Hernández-Carranza, P., Ávila-Sosa, R., Guerrero-Beltrán, J. A., Navarro-Cruz, A. R., Corona-Jiménez, E. y Ochoa-Velasco, C. E. (2016). Optimization of antioxidant compounds extraction from fruit by-products: apple pomace, orange and banana peel. *Journal of Food Processing and Preservation*. Vol. 40(1):103-115.

Hernández, J. D. (2014). Crecimiento y producción de naranja cv. Valencia *Citrus sinensis* (L.) Osbeck, como respuesta a la aplicación de correctivos y fertilizante (tesis de pregrado). Universidad Nacional de Colombia. Medellín, Colombia.

Iglesias, J. (2009). Diseño de ingredientes antioxidantes de origen natural y su aplicación en la estabilización de productos derivados de la pesca. (tesis doctoral). Universidad de Santiago de Compostela, España.

Iwalokun, B. A. y Shittu, M. O. (2007). Effect of *Hibiscus sabdariffa* (Calyce) Extract on Biochemical and Organoleptic Properties of Yogurt. *Pakistan Journal of Nutrition*. Vol. 6(2):172-182.

Jacobo-Velázquez, D. A., Castellanos-Dohnal, G., Caballero-Mata, P. Hernández-Brenes, C. (2013). Cambios bioquímicos durante el almacenamiento de puré de aguacate adicionado con antioxidantes naturales y procesado con alta presión hidrostática. *CyTA-Journal of Food*. Vol. 11(4):379-391.

Kumar, S. (2011). Free Radicals and Antioxidants: Human and Food System. *Advances in Applied Science Research*. Vol. 2(1):129-135.

Kuskoski, E. M., Asuero, A. G., Troncoso, A. M., Mancini-Filho, J. y Fett, R. (2005). Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en la pulpa de frutos. *Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas*. Vol. 25(4):726-732.

Marín, S. E. y Mejía, C. M. (2012). Extracción de colorante a partir de la flor de jamaica. (tesis de pregrado). Universidad Nacional de Ingeniería. Managua, Nicaragua.

Medina, I. (2010). Antioxidantes naturales en alimentos ricos es ácidos grasos ω -3 en Antioxidantes naturales. Aspectos saludables, toxicológicos y aplicaciones industriales. Santiago de Compostela, España, pp. 83-84.

Morante, J., Agnieszka, A., Bru-Martínez, R., Carranza, M., Pico-Saltos, R. y Nieto, E. (2014). Distribución, localización e inhibidores de las polifenol oxidasas en frutos y vegetales usados como alimento. Ciencia y Tecnología. Vol. 7(1):23-31.

Moreno, M. J., Belén, D. R., Sánchez, M. P., Vilorio, M. y García, D. (2004). Evaluación de la actividad antioxidante de extractos de flavonoides de cáscara de naranja en el aceite de soja desodorizado. Interciencia. Vol. 29(9):532-538.

Muñoz, L. M. y Rojas, L. C. (2016). Subproductos del aguacate, materia prima potencial para diversos sectores industriales en Investigación, ciencia, innovación y competitividad “Una estrategia de desarrollo agroindustrial sostenible en territorio de paz”. Universidad de amazonia Florencia-Caqueta-Colombia, p. 138.

Ochoa, C. E. y Guerrero, J. A. (2012). Efecto del Almacenamiento a Diferentes Temperaturas sobre la Calidad de Tuna Roja (*Opuntia ficus indica* (L.) Miller). Información Tecnológica Vol. 23(1):117-128.

Ochoa, C. I., Ayala, A. A. (2004). Los flavonoides: apuntes generales y su aplicación en la industria de alimentos. Ingeniería y competitividad. Vol. 6(2):93-104.

Ochoa-Velasco, C. E. y Guerrero-Beltrán, J. A. (2010). La tuna: una perspectiva de su producción, propiedades y conservación. Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos. Universidad de las Américas. Vol. 4(1): 49-63.

Ochoa-Velasco, C. E. y Guerrero-Beltrán, J. A. (2013). Efecto de la temperatura de almacenamiento sobre las características de calidad de tuna blanca Villanueva (*Opuntia albicarpa*). Revista iberoamericana de tecnología postcosecha. Vol. 14(2):149-161.

Ochoa-Velasco, C. E., Salazar-González, C., Cid-Ortega, S. y Guerrero-Beltrán, J. A. (2017). Antioxidant characteristics of extracts of *Hibiscus sabdariffa* calyces encapsulated with mesquite gum. Journal Food Science and Technology. Vol. 54(7):1747-1756.

Pardo, J. (2002). Patentabilidad de los extractos vegetales. Disponible en: http://www.ub.edu/centredopatents/pdf/doc_dilluns_CP/pardo_patentesextractosplantas.pdf . Consultado 01 de junio de 2018.

Porrás-Loaiza, A. P. y López-Malo, A. (2009). Importancia de los grupos fenólicos en los alimentos. Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos. Vol. 3(1):121-134.

Ramírez- Cortés, B., Caro-Velarde, F. J., Valdivia-Reynoso, M. G., Ramírez-Lozano, M. H. y Machuca-Sánchez, M. L. (2011). Cambios en tamaño y características químicas de cálices de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) durante su maduración. Revista Chapingo Serie Horticultura. Vol. 17(2):19-31.

Ramírez, J. A. y Nicholls, J. E. (2014). Usos y aplicaciones medicinales e industriales de la flor de jamaica. Monografía. (tesis de pregrado). Universidad Nacional Abierta y a Distancia Escuela de Ciencias Agrícolas, pecuarias y del medio ambiente. Programa de agronomía. Medellin-Antioquía, Colombia.

Reyes-Agüero, J. A., Aguirre-Rivera, J. R. y Hernández, H. M. (2005). Notas sistemáticas y una descripción detallada de *Opuntia ficus-indica* (L.) MILL. (CACTACEAE). Agrociencia. Vol. 39(4):395-408.

Rincón, A., Vásquez, M. y Padilla, F. (2005). Composición química y compuestos bioactivos de las harinas de cáscaras de naranja (*Citrus sinensis*), mandarina (*Citrus reticulata*) y toronja (*Citrus paradisi*) cultivadas en Venezuela. Archivos Latinoamericanos de Nutrición. Universidad Central de Venezuela.

Robles, J. E. (2009). Cultivo de tuna (*Opuntia ficus indica*). Gerencia Regional Agraria La Libertad. Trujillo-Perú.

Rocha, A., y Morais, A. (2002). Polyphenoloxidase activity and total phenolic content as related to browning of minimally processed 'Jonagored' apple. Journal of the Science of Food and Agriculture. Vol. 82(1):120-126.

Rodríguez, M. (2003). Guía técnica: Cultivo del aguacate. Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal. El Salvador, pp. 11-12.

Sáenz, C., Berger, H., Corrales, J., Galletti, L., García, V., Higuera, I., Mondragón, C. Rodríguez- Félix, A., Sepúlveda, E. y Varnero, M. T. (2007). Utilización agroindustrial del nopal. México.

SAGARPA. (2014). La producción de nopal y tuna genera ganancias aproximadas de 60 mil pesos por hectárea al año: Jiménez Merino. Disponible en: <https://www.gob.mx/sagarpa%7Cpuebla/articulos/la-produccion-de-nopal-y-tuna-genera-ganancias-aproximadas-de-60-mil-pesos-por-hectarea-al-ano-jimenez-merino>. Consultado: 15 de febrero de 2018.

SAGARPA. (2016). Conoce más sobre la flor de jamaica. Disponible en <https://www.gob.mx/sagarpa/articulos/conoce-mas-sobre-la-flor-de-jamaica>. Consultado: 19 de febrero de 2018.

SAGARPA (2017). Puebla con potencial para alcanzar mejor nivel de producción de aguacate. Disponible en <https://www.gob.mx/sagarpa/puebla/articulos/puebla-con->

potencial-para-alcanzar-mejor-nivel-de-produccion-de-aguacate?idiom=es. Consultado: 02 de octubre de 2018.

SAGARPA-COFUPRO-CONACyT. (2010). Fondo sectorial de investigación en materia agrícola, pecuaria, acuicultura, agrobiotecnología y recursos fitogenéticos. Anexo B. demandas del sector 2010-7 Convocatoria 2010-7. Consultado: 19 de febrero de 2018.

Salinas-Moreno, Y., Zúñiga-Hernández, A. R. E., Jiménez-De la Torre, L. B., Serrano-Altamirano, V. y Sánchez-Feria, C. (2012). Color en cálices de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) y su relación con características fisicoquímicas de sus extractos acuosos. Revista Chapingo Serie Horticultura. Vol. 18(3):395-407.

Saura-Calixto, F. (2010). Contribución a la ingesta de antioxidantes en la dieta mediterránea en Antioxidantes naturales. Aspectos saludables, toxicológicos y aplicaciones industriales. Santiago de Compostela, España, pp. 25-28

SEDEA. (2003). Requerimientos agroecológicos de cultivos. Disponible en: <http://sede.queretaro.gob.mx/sites/sede.queretaro.gob.mx/files/NOPAL.pdf>. Consultado: 03 de junio de 2018.

SEMARNAT. (2016). Residuos sólidos urbanos: la otra cara de la basura. Disponible en https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/39412/RESIDUOS_SOLIDOS_URBANOS-_ENCARTE.pdf. Consultado: 7 de febrero de 2018.

SIAP. (2016). El cultivo del aguacate. El oro verde del campo mexicano. Disponible en <https://www.gob.mx/siap/articulos/el-cultivo-del-aguacate>. Consultado: 18 de febrero de 2018.

SIAP. (2017). Oro verde en un súper tazón. Disponible en <https://www.gob.mx/siap/articulos/oro-verde-en-un-super-tazon>. Consultado: 18 de febrero de 2018.

SIAP-SAGARPA. (2009). Reporte especial naranja. Disponible en <http://infosiap.siap.gob.mx/images/stories/infogramas/100602-reporte-naranja.pdf>. Consultado: 17 de febrero de 2018.

Sumaya-Martínez, M. T., Suárez, T., Cruz, N. S. Alanís, E., Sampedro, J. G. (2010). Innovación de productos de alto valor agregado a partir de la tuna mexicana. Revista mexicana de agronegocios. Vol. 14(27):435-441.

Sumaya, M. T., Medina, R. E., Machuca, M. L., Jiménez, E., Balois, R. y Sánchez, L. M. (2014). Potencial de la jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) en la elaboración de alimentos funcionales con actividad antioxidante. Revista Mexicana de Agronegocios. Vol. 18(35):1082-1088.

USDA. (2016). Full Report (All Nutrients): 45012499, ORANGE PEEL, UPC: 609207617549. Disponible en <https://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/45012499?fgcd=&manu=&format=&count=&max=25&offset=&sort=default&order=asc&qlookup=orange+peel+&ds=&qt=&qp=&qa=&qn=&q=&ing=>. Consultado: 7 de febrero de 2018.

Wąsowicz, E., Gramza, A., Heś, M., Jeleń, H., Korczak, J., Małecka, M., Mildner-Szkudlarz, S., Rudzińska, M., Samotyja, U. y Zawirska-Wojtasiak, R. (2004). Oxidation of lipids in food. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*. Vol. 13/54:87-100.

Vallecillo, M. S. y Gómez, E. (2004). Cultivo de rosa de jamaica. Managua, Nicaragua. EDITARTE, p. 13.

Vanini, L., Kwiatkowski, A. y Clemente, E. (2010). Polyphenoloxidase and peroxidase in avocado pulp (*Persea americana* Mill.). *Ciencia y Tecnología de Alimentos*. Vol. 30(2):525-531.

Velázquez, A. (2012). Sacarificación y fermentación de la cáscara de tuna (*Opuntia streptacantha* L.) para producir bioetanol (tesis de pregrado). Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.

Zhang, X. y Shao, X. (2015). Characterisation of polyphenol oxidase and peroxidase and the role in browning of loquat fruit. *Czech Journal of Food Sciences*. Vol. 33(2):109-117.