



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE
HIDALGO**



FACULTAD DE QUÍMICO-FARMACOBIOLOGÍA

TESIS

**CARACTERIZACIÓN QUÍMICA Y PROPIEDADES ANTIOXIDANTES
DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE CÁSCARAS DE AGUACATE Y
DE FRACCIONES OBTENIDAS POR CARBONIZACIÓN
HIDROTÉRMICA**

Para obtener el título de Químico Farmacobióloga

Presenta:

P.QFB CARMEN LARA RODRÍGUEZ

Director:

D.C Martha Estrella García Pérez

Morelia, Michoacán. Junio 2022

ÍNDICE DE CONTENIDO

INTRODUCCIÓN.....	1
MARCO TEÓRICO	3
La piel: importancia fisiológica y características histológicas	3
El envejecimiento cutáneo: definición y factores extrínsecos e intrínsecos implicados	8
El estrés oxidativo y el envejecimiento cutáneo.....	10
Los polifenoles: síntesis y características químicas	12
Los polifenoles como agentes antienvjecimiento	16
Características generales del aguacate (<i>Persea americana</i> Mill. cultivar Hass).....	18
Origen	20
Descripción botánica	20
Importancia económica.....	21
Propiedades nutricionales de fruto	22
Propiedades farmacológicas	24
Contenido de polifenoles y actividad antioxidante de extractos de aguacate.....	24
Sustancias usadas para atenuar el envejecimiento cutáneo	27
Propiedades antioxidantes y anti-envejecimiento de extractos de aguacate.....	32
Métodos de obtención de extractos con propiedades bioactivas	36
Descripción de la carbonización hidrotérmica (HTC).....	38
Utilización de bioaceites obtenidos por carbonización hidrotérmica para aplicaciones medicinales	41
JUSTIFICACIÓN	42
HIPÓTESIS	43
OBJETIVOS.....	44
MATERIALES Y MÉTODOS.....	45

Colecta de aguacates.....	45
Identificación botánica	46
Preparación de la cáscara.....	46
Determinación del porcentaje en humedad	46
Obtención del extracto etanólico de <i>Persea americana</i> (EEPA)	46
Obtención de fracciones por carbonización hidrotérmica	47
Caracterización química	48
Análisis de la capacidad antioxidante del extracto etanólico y de los bioaceites obtenidos por carbonización hidrotérmica	50
Análisis estadístico	52
RESULTADOS	53
Colecta de aguacate y análisis botánico	53
Porcentaje en humedad y rendimiento.....	55
Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier	55
Extracto etanólico de la cáscara de aguacate.....	55
Bioaceite ligero procedente de la carbonización hidrotérmica.....	57
Bioaceite pesado procedente de la carbonización hidrotérmica	59
Caracterización química del extracto etanólico y de los bioaceites	61
Actividad antioxidante del extracto etanólico y de los bioaceites obtenidos por HTC	62
Correlación de Spearman.....	65
DISCUSIÓN	67
CONCLUSIONES.....	73
RECOMENDACIONES	74
REFERENCIAS	75

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Capas de la piel y diferenciación de queratinocitos.....	4
Figura 2. Representación 3D de la piel humana.....	6
Figura 3. Estructura de la piel y sus anejos cutáneos.....	7
Figura 4. Cambios histológicos e histoquímicos de piel.....	10
Figura 5. Impacto del estrés oxidativo en el envejecimiento cutáneo.....	12
Figura 6. Núcleo estructural de los principales polifenoles.....	13
Figura 7. Formación del ácido shikímico.....	14
Figura 8. Ruta biosintética de los polifenoles en las plantas.....	15
Figura 9. Estructura química de algunos polifenoles con efecto anti-envejecimiento.....	16
Figura 10. Estructura química de alfa-hidroxiácidos.....	31
Figura 11. Productos obtenidos del proceso de carbonización hidrotérmica.....	38
Figura 12. Reacciones relevantes en la carbonización hidrotérmica.....	39
Figura 13. Metodología del experimento.....	45
Figura 14. Localización geográfica de la colecta de aguacate.....	53
Figura 15. Muestra colectada en el herbario IEB.....	54
Figura 16. Gráfico de FTIR del EEPA.....	56
Figura 17. Gráficos de FTIR del bioaceite ligero.....	58
Figura 18. Gráficos de FTIR del bioaceite pesado.....	60
Figura 19. Gráficos de pre-caracterización química.....	61
Figura 20. Gráficos de la actividad antioxidante.....	64

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Composición nutrimental de la pulpa de aguacate.....	22
Tabla 2. Algunos compuestos fenólicos presentes en diferentes partes y productos derivados del aguacate.....	26
Tabla 3. Estudios realizados con extractos de cáscara de aguacate como antioxidantes..	33
Tabla 4. Condiciones utilizadas durante la HTC.....	48
Tabla 5. Análisis botánico de la muestra de aguacate.....	54
Tabla 6. Porcentaje de rendimiento.....	55
Tabla 7. FTIR del EEPA.....	56
Tabla 8. FTIR del bioaceite ligero.....	58
Tabla 9. FTIR del bioaceite pesado.....	60
Tabla 10. Correlación de Spearman entre los diferentes grupos de fenoles analizados y la capacidad antioxidante.....	65

RESUMEN

El aguacate (*Persea americana* Mill.) es una planta cuya fruta es muy reconocida por su textura, sabor y propiedades nutricionales. Su consumo genera grandes cantidades de cáscara, lo que supone toneladas de residuos desechados sin más aplicación que para la alimentación animal. En este contexto, el aprovechamiento de este subproducto para la obtención de extractos antioxidantes que pudieran ser aprovechados para atenuar el envejecimiento cutáneo se presenta como una estrategia novedosa para mejorar la sustentabilidad en el manejo de este subproducto alimentario. La presente investigación propone el aprovechamiento integral de la cáscara de aguacate a través de la obtención, caracterización química y estudio de las propiedades antioxidantes de un extracto etanólico (EEPA) y de fracciones derivadas la carbonización hidrotérmica (HTC). Para ello, las cáscaras fueron sometidas a una extracción por maceración y la biomasa residual resultante a HTC utilizando temperaturas de 200, 250 y 300 °C. Lo anterior permitió obtener el EEPA, bioaceites ligeros (BAL 200-300) y bioaceites pesados (BAP 200-300), los que fueron caracterizados químicamente para determinar su contenido en fenoles totales, ácidos hidroxicinámicos, proantocianidinas y flavonoides por métodos espectrofotométricos, así como la presencia de grupos funcionales por espectroscopía de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR). Posteriormente las muestras fueron analizadas respecto a su capacidad antioxidante para captar especies oxidantes involucradas en el envejecimiento cutáneo. Los BAL resultaron ser ricos en fenoles, ácidos hidroxicinámicos y flavonoides (BAL-200), mientras que el EEPA extrajo más eficazmente a las proantocianidinas. El análisis FTIR mostró la riqueza en grupos funcionales del EEPA y los BAP. Los BAL resultaron más eficientes para captar a los radicales superóxido e hidroxilo, mientras que el EEPA mostró una mayor capacidad para captar al óxido nítrico y radical peroxilo. La capacidad para captar al peróxido de hidrógeno fue similar en el EEPA y los BAL, mientras que los BAP no mostraron capacidad antioxidante alguna en los ensayos realizados. Resumiendo, estos resultados demuestran que las cáscaras de aguacate constituyen una fuente de moléculas activas antioxidantes y que el uso conjunto de la extracción con la carbonización hidrotérmica representa una estrategia novedosa para maximizar la obtención de fracciones bioactivas a partir de este desecho alimentario.

Palabras clave: aguacate, antioxidante, carbonización hidrotérmica, fenoles, maceración.

ABSTRACT

The avocado (*Persea americana* Mill.) is a plant whose fruit is well known for its texture, flavor, and nutritional properties. Its consumption generates large amounts of peel, and consequently tons of discarded waste with no other application than for animal feed. In this context, the use of this by-product to obtain antioxidant extracts that could be used to attenuate skin aging is presented as a novel strategy to improve the sustainability in the management of this food by-product. This research proposes the comprehensive use of avocado peel by obtaining, characterizing, and studying the antioxidant properties of an ethanolic extract (EEPA) and fractions derived from hydrothermal carbonization (HTC). For this, the shells were subjected to an extraction by maceration and the resulting residual biomass to HTC using temperatures of 200, 250, and 300 °C. This yielded an ethanolic extract (EEPA), light bio-oils (BAL 200-300), and heavy bio-oils (BAP 200-300), which were chemically characterized to determine the total phenols, hydroxycinnamic acids, proanthocyanidins, and flavonoids content by spectrophotometric methods. Moreover, the presence of functional groups by Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) was determined. Subsequently, the samples were analyzed for their antioxidant capacity to capture oxidant species involved in skin aging. BALs were found to be rich in phenols, hydroxycinnamic acids, and flavonoids (BAL-200), while EEPA extracted proanthocyanidins more efficiently. The FTIR analysis evidenced the richness in functional groups of EEPA and BAP. The BAL were more efficient to capture superoxide and hydroxyl radicals, while the EEPA showed a greater capacity to capture nitric oxide and peroxy radical. The capacity to capture hydrogen peroxide was similar in the EEPA and the BAL, while the BAP did not show any antioxidant capacity in the performed tests. In summary, these results demonstrate that avocado peels are a source of active antioxidant molecules and that the use of extraction with hydrothermal carbonization together represents a novel strategy to maximize the obtaining of bioactive fractions from this food waste.

Keywords: avocado, antioxidant, hydrothermal carbonization, phenols, maceration.

INTRODUCCIÓN

El aguacate (*Persea americana* Mill.) es una fruta muy nutritiva, que contiene altos niveles de ácidos grasos insaturados, vitaminas, minerales, proteínas y fibra. Es originaria de México y América Central, aunque en la actualidad se cultiva en casi todas las regiones tropicales y subtropicales del mundo. Entre sus principales variedades, “Hass” es la variedad cultivada e importada más popular (1). El aguacate se consume comúnmente como fruta fresca, sin embargo, en los últimos años han aparecido productos ampliamente industriales del aguacate, como el guacamole, los trozos congelados de pulpa o el aceite de aguacate. Este procesamiento industrial genera una gran cantidad de subproductos, como cáscaras y semillas, que deben ser procesados como residuos. Particularmente la cáscara del aguacate alcanza el 13% del peso del fruto, lo que hoy en día supone toneladas de residuos desechados sin más aplicación que para la alimentación animal (2).

La industria agroalimentaria actual está inmersa en un contexto crítico a nivel medioambiental que hace imperativa la transformación de su modelo productivo a través del establecimiento de políticas de sostenibilidad, generando la necesidad de la aplicación de modelos de economía circular en sus estrategias productivas. Lo anterior implica necesariamente el aprovechamiento de subproductos para la obtención de otros productos con alto valor añadido, así como la mejora de los métodos de conservación para reducir el desperdicio de alimentos (3). De hecho, la búsqueda de nuevos compuestos antioxidantes naturales obtenidos a partir de subproductos es una nueva área de investigación con alto impacto en la industria alimentaria (4).

Además, hoy en día la concienciación del consumidor sobre la relación del uso de productos naturales, supuestamente menos tóxicos y la salud está impulsando una nueva tendencia enfocada hacia el desarrollo de nuevos productos de origen natural para la salud. En este escenario, los extractos de aguacate han demostrado numerosas actividades biológicas, por ejemplo, propiedades antimicrobianas, antioxidantes, antiinflamatorias o anticancerígenas (5). Recientemente, se ha demostrado la actividad anti-edad de extractos y del aceite de aguacate, fundamentalmente derivados de la pulpa y la semilla (6). Existen varias teorías que han intentado explicar el envejecimiento, una de ellas se basa en la hipótesis de que las pérdidas funcionales en la piel asociadas con la edad se deben a la acumulación de daños inducidos por especies reactivas de oxígeno y nitrógeno (7). En este

contexto, el uso de compuestos antioxidantes para atenuar los signos del envejecimiento cutáneo se ha convertido en una estrategia bastante aceptada por la comunidad científica.

En la actualidad existe una información limitada acerca de las propiedades anti-edad de extractos de cáscara, a pesar de que los estudios que han analizado su composición química han demostrado la presencia de numerosos compuestos bioactivos como carotenoides, tocoferoles y fenoles en este tejido, con reconocidas propiedades antioxidantes lo que sugiere que también podrían potencialmente atenuar los signos del envejecimiento cutáneo (3).

Teniendo en cuenta que los métodos de extracción convencional normalmente empleados en la obtención de extractos desechan la biomasa residual, la que aún es rica en compuestos bioactivos, la presente investigación propone una estrategia integral para aprovechar la cáscara de aguacate y maximizar la obtención de fracciones activas antioxidantes con vistas a desarrollar nuevos productos cosmecéuticos anti-edad. Para ello, se establece por vez primera la aplicación de la carbonización hidrotérmica como método de obtención de moléculas bioactivas antioxidantes a partir de la biomasa residual extraída en conjunción con la extracción de la cáscara por maceración.

MARCO TEÓRICO

La piel: importancia fisiológica y características histológicas

La piel constituye la primera línea de defensa para el cuerpo protegiéndolo de agentes externos como la contaminación del medio ambiente, radiación ultravioleta, agentes químicos, microorganismos patógenos y traumatismos mecánicos. También regula el medio interno por ejemplo la temperatura corporal, la cantidad de agua y electrolitos, además presenta nervios sensoriales que detectan estímulos como la vibración, presión, temperatura, dolor y picazón que ayudan al cuerpo a interactuar con el medio (8,9).

Se considera que es el órgano más extenso del cuerpo cubriendo una superficie de 1.6-1.9 m², con un peso total promedio de 4 kg y un espesor variado que va desde 0.05 cm a hasta los 0.3 cm. La piel cambia el grosor, textura y color dependiendo de la parte del cuerpo y de las necesidades funcionales de este, por ejemplo, la piel de los párpados es muy delgada y la de las palmas de las manos es gruesa, también varía entre hombres y mujeres, la piel de los hombres produce menos aceite, pero forma pelos gruesos (10,11).

La piel se encuentra constituida por tres capas: epidermis, dermis y la hipodermis. La capa más externa es la epidermis, se trata de un tipo de epitelio escamoso en constante renovación. El queratinocito es la célula más abundante, representando un aproximado de 95% de las células epidérmicas, su diferenciación y movimiento desde la membrana basal a la superficie de la piel da lugar a cinco estratos partiendo del más externo tenemos al estrato córneo, estrato lucido (presente las palmas de las manos y de los pies), granuloso, espinoso y basal (9) (**Figura 1**).

El estrato córneo proporciona la primera línea de protección de la piel, está compuesto principalmente de corneocitos que no son más que queratinocitos diferenciados que han cambiado su estructura y composición durante la migración desde la capa basal, se convierten en células escamosas planas y anucleadas con filamentos de queratina. Así el estrato córneo está formado por corneocitos que se rodean de una envoltura celular formada de proteínas, principalmente loricrina e involucrina y unida de forma covalente a una envoltura lipídica formada de moléculas de hidroxiceramida (12,13).

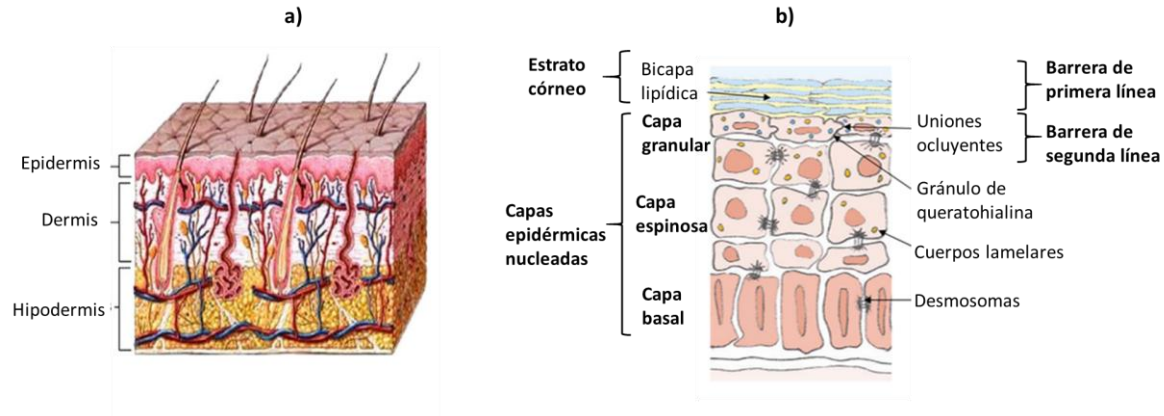


Figura 1. (a) Capas de la piel, epidermis, dermis e hipodermis. (b) Diferenciación de los queratinocitos a través de los distintos estratos de la epidermis: corneo, granular, espinoso y basal.

El estrato lúcido sólo se encuentra en la piel gruesa que se presenta en las palmas de las manos y las plantas de los pies, en este estrato los queratinocitos no presentan núcleos y el límite entre las células no está determinado (11)

El siguiente estrato es el granuloso, aquí los queratinocitos presentan una forma más aplanada, se caracteriza por contener gránulos lamelares, éstos son estructuras que contienen láminas lipídicas compuestas por fosfolípidos, colesterol y glucosilceramidas. Cuando el queratinocito se encuentra en este estrato se llama granulocito y durante su diferenciación su membrana plasmática se fusiona con los gránulos lamelares que liberan tanto su membrana lipídica como una carga de hidrolasas ácidas en el espacio intercelular de la célula granular, las hidrolasas se encargan de descomponer los fosfolípidos y de transformar las glucosilceramidas en ceramidas (14).

Debajo del estrato granuloso se localiza el estrato espinoso que es el más grueso de la epidermis, los queratinocitos que se encuentran en esta capa tienen en su mayoría forma poliédrica y núcleos redondos, poseen agrupaciones de tonofilamentos de queratina llamadas tonofibrillas que terminan en desmosomas y agrupan así a los queratinocitos vecinos formando puentes entre sus prolongaciones espinosas dando lugar a un patrón de unión llamado espinoso (10).

El estrato basal es la capa más profunda de la epidermis y se compone de una capa de queratinocitos con forma cúbica unidos a la membrana basal mediante hemidesmosomas

localizados en los tonofilamentos que se originan en su citoplasma y unidos con los queratinocitos vecinos mediante desmosomas. Algunos de éstos queratinocitos se dividen por mitosis y forman así el siguiente estrato mientras que otros permanecen anclados a la membrana basal como células madre (9,11).

Las otras células que componen la epidermis son las células de Langerhans, las células de Merkel y los melanocitos, estas células se encuentran distribuidas entre los queratinocitos de las diferentes capas. Las células de Langerhans son un tipo de células dendríticas y representan entre 2-4 % de las células de la epidermis, su función es reconocer y presentar distintos antígenos a las células T y participan en la dermatitis de contacto (inflamación de la piel por reacción alérgica) (11).

Las células de Merkel se encuentran distribuidas a través del estrato basal, se localizan principalmente en las puntas de los dedos y tienen una importante función en la percepción sensorial ya que presentan una gran sensibilidad al tacto. Estas células se unen a los queratinocitos mediante desmosomas y cada una tiene contacto con una terminal nerviosa aferente (10).

Los melanocitos son las células que poseen prolongaciones dendríticas, son los encargados de la producción de melanina (sintetizada en el retículo endoplásmico del melanocito) que es un pigmento capaz de absorber la radiación UV y proteger así a los queratinocitos evitando que esta radiación llegue a sus núcleos y cause daños irreversibles en el ADN (11).

La dermis se encuentra constituida por dos capas: la dermis papilar (compuesta de colágeno tipo III que forma una fina malla) y la reticular (hecha de haces gruesos de colágeno tipo I) combinadas representan alrededor del 80% de la dermis y la elastina entre el 0,7-2,5%. Su principal célula es el fibroblasto que en conjunto con las capas forman una red tridimensional que se adapta a cada parte del cuerpo y es capaz de resistir la tensión y retracción (15) (**Figura 2**).

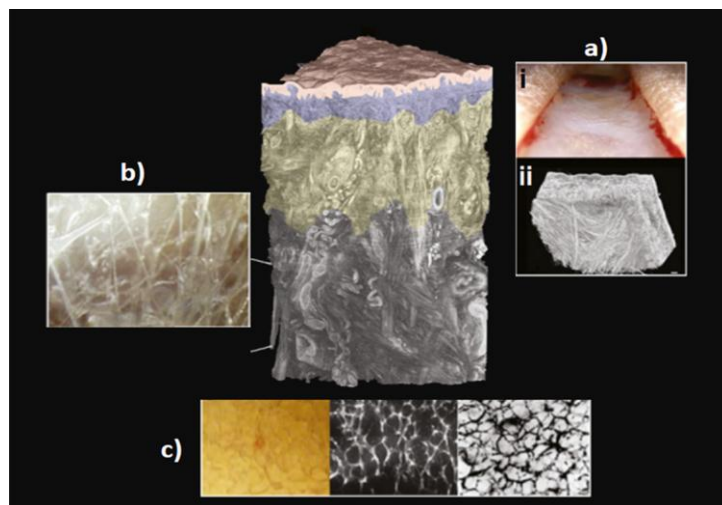


Figura 2. Representación de la piel humana. La imagen central muestra una representación 3D de la piel humana utilizando imágenes episcópicas. En color rosa se observa la epidermis; en azul la dermis papilar; en amarillo la dermis reticular y en gris la hipodermis. (a)(i) Corte de piel hasta el nivel de la dermis reticular. (ii) Imágenes episcópicas de la dermis mostrando la orientación de las fibras de colágeno entrelazadas. (b) Red microvacuolar de colágeno laxo, extensible y flexible. (c) Imágenes de grasa hipodérmica vista por diferentes modalidades de imagen (16).

La matriz extracelular (MEC) se compone de una red de macromoléculas que mantienen la rigidez, funcionalidad y resistencia del tejido y se encargan de regular mecanismos celulares, la MEC se asocia mediante integrinas a fibras de colágeno, elastina y proteoglicanos (originados a partir de los fibroblastos), en conjunto generan soporte estructural y actúan durante la cicatrización (15).

La hipodermis facilita la movilidad de la piel, se encuentra constituida principalmente por tejido conjuntivo laxo, es rica en proteínas G asociadas a receptores que regulan la lipólisis, la secreción de adiponectina y leptina, también es rica en adipocitos que proveen de aislamiento térmico y reservas metabólicas (11) (**Figura 2**).

Las células que en su mayoría componen a la hipodermis son los adipocitos, los fibroblastos y los macrófagos, estas desempeñan un papel importante en la homeostasis del tejido adiposo, remodelación del tejido y la estimulación de la termogénesis de la grasa durante la exposición al frío o al ejercicio (16).

La piel presenta también otras estructuras especializadas situadas en la dermis y la hipodermis, conectadas a la epidermis como son las glándulas sebáceas, las sudoríparas y el pelo (**Figura 3**). Las glándulas sebáceas están ausentes en las palmas de las manos y

plantas de los pies y son más abundante en el rostro, frente y cuero cabelludo. Estas glándulas generalmente están asociadas a un folículo piloso, pero en algunas zonas del cuerpo como en los párpados se abren a la superficie de la piel directamente. Se componen de una capa de células basales y varias capas de sebocitos diferenciados y no diferenciados cargados de lípidos que al desintegrarse liberan el sebo, éste cumple con funciones como dar flexibilidad y textura a la piel y el cabello y protegerlos del medio ambiente (9,10).

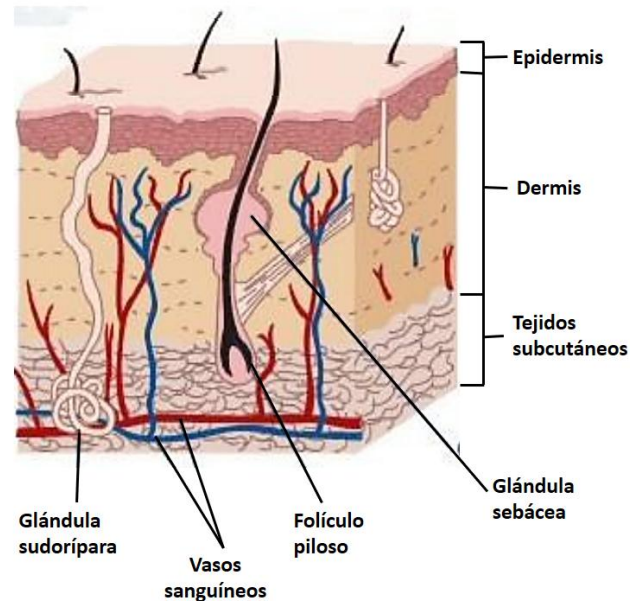


Figura 3. Estructura de la epidermis, dermis e hipodermis y algunos de sus anejos cutáneos, muestra la distribución de venas y arterias en la dermis e hipodermis y la ausencia de vascularización en la epidermis (11).

Las glándulas sudoríparas pueden ser de dos tipos: ecrinas y apocrinas. Las ecrinas no se asocian a folículos pilosos, tienen forma tubular y enrollada, producen el sudor que es rico en sales minerales, amoníaco, ácido úrico y productos de desecho, participan en la regulación de la temperatura y se encuentran en toda la superficie del cuerpo, excepto en el bermellón de los labios y en genitales, son más abundantes en las palmas de las manos, plantas de los pies, axilas y la frente. La apocrinas por el contrario sí se asocian a los folículos pilosos y tienen un mayor tamaño que las ecrinas, su secreción es más viscosa y oscura y desemboca en el folículo piloso y se localizan principalmente en las axilas, monte de venus y areola del pezón (10,11).

El pelo está distribuido por todo el cuerpo excepto en las palmas de las manos, plantas de los pies y genitales, nace a partir de la raíz en el folículo piloso y su parte visible se llama tallo. El folículo piloso se extiende desde el tejido subcutáneo hasta la superficie de la piel, se divide en tres segmentos: el infundíbulo (se extiende desde la piel hasta la apertura del conducto sebáceo), el istmo (va desde el infundíbulo hasta la inserción del musculo erector del pelo) y el bulbo (comprende la parte inferior del folículo). La papila es una estructura que se encuentra envuelta por el bulbo, es rica en vascularización y es muy importante para el crecimiento del cabello (9,11).

El envejecimiento cutáneo: definición y factores extrínsecos e intrínsecos implicados

El proceso de envejecimiento puede definirse como el proceso de disminución de la función máxima y de la capacidad de reserva en todos los órganos del cuerpo, lo cual lleva a enfermedad y muerte (17). El envejecimiento celular cutáneo depende de factores intrínsecos o endógenos, también llamados biológicos que son inevitables y están determinados por la genética, aunque depende también de factores extrínsecos o exógenos que son determinados por las condiciones ambientales y son capaces de exacerbar a los factores intrínsecos, este proceso de deterioro lleva a una serie de manifestaciones cutáneas como arrugas, desecación cutánea, atrofia senil difusa, entre otras (18,19). Además, se presentan numerosos cambios histológicos en la piel (**Figura 4**).

Los factores intrínsecos provocan manifestaciones específicas como el adelgazamiento de la piel, xerosis, laxitud, arrugas y atrofia que lleva a la prominencia de los vasos sanguíneos, pérdida de elasticidad y mayor fragilidad cutánea. Dentro de los factores intrínsecos la genética es uno de los principales condicionantes, es así que se le atribuye el 25 % del proceso de envejecimiento, algo que hasta ahora resulta inmodificable, si bien no hay un gen determinante del envejecimiento, los genes asociados a enfermedades de la vejez están implicados en el estrés oxidativo, la reparación del ADN y la inflamación (17,18).

Otro factor biológico es la función del telómero ya que su acortamiento provocado por la falta de actividad de la telomerasa produce en la célula un estado de senescencia. También la regulación hormonal juega un papel importante, ya que la reducción de los niveles de

estrógeno provoca la disminución de elastina y modificaciones vasculares que alteran la oxigenación de los tejidos (17).

Los factores extrínsecos o exógenos son condicionados por el ambiente, siendo la exposición a los rayos UV el que más contribuye al envejecimiento de la piel, aunque también se consideran importantes la exposición al humo del tabaco que aumenta la producción de radicales libres y disminuye la producción de colágeno y elastina, así como las partículas presentes en el aire, la radiación infrarroja, el ozono y una mala nutrición (18,20).

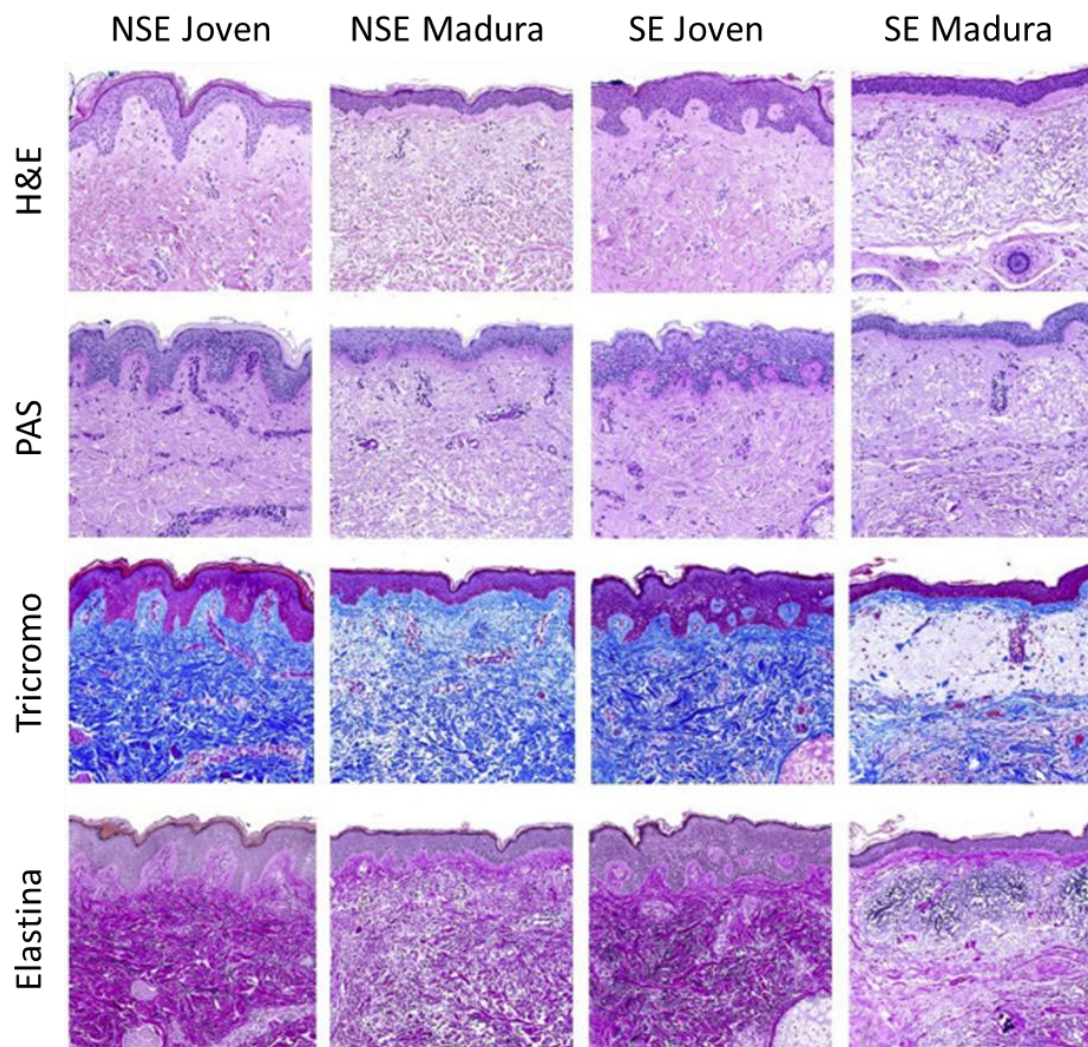


Figura 4. Cambios histológicos e histoquímicos de piel adulta relativamente joven (29 años) de cara expuesta crónicamente al sol (SE) y piel de abdomen crónicamente no expuesta al sol (NSE) vs. piel relativamente envejecida (84 y 88 años). Se observa un adelgazamiento epidérmico notable con pérdida de las crestas interpapilares en la piel envejecida, independientemente de que esté expuesta o no al sol. Esta piel se caracteriza por un colágeno dérmico reticular menos denso y menos intensamente teñido. La disminución de

la densidad del colágeno dérmico en la piel envejecida se confirma aún más con las tinciones de tricromo y elastina, que también revelan un reemplazo significativo de la dermis superior por fibras elásticas marcadamente anormales. Tinción con hematoxilina y eosina (H&E) y ácido peryódico de Schiff (PAS) Ampliación original, $\times 10$. Tomado de (21).

El estrés oxidativo y el envejecimiento cutáneo

La oxidación y la reducción son necesarias para la producción de energía y de especies reactivas de oxígeno (ERO) y nitrógeno (ERN) de tipo radicalarias y no radicalarias, moléculas necesarias para el funcionamiento celular pero también capaces de producir sustancias tóxicas para el organismo al reaccionar con otras. Por esta razón los mecanismos de oxidación son cuidadosamente regulados para conservar un equilibrio, pues el exceso de especies reactivas de oxígeno puede llevar al organismo a un estrés oxidativo (17).

Los radicales libres poseen electrones impares que pueden neutralizarse y reaccionar con O_2 formando radicales tipo peroxilo. De los radicales libres, el superóxido (O_2^-) es el más abundante ya que es resultado de variados procesos metabólicos. El radical hidroxilo (OH) es el más tóxico y se deriva de la reacción del radical superóxido con el peróxido de hidrógeno, el óxido nítrico (NO) tiene efecto tóxico al mezclarse con el radical superóxido. El peróxido de hidrógeno (H_2O_2) es no radicalario, pero es el oxidante más estable de todos (22).

Se considera que un 50% de los daños causados por la radiación UV en la piel son causados por la formación de radicales libres. La luz UVA presenta una gran capacidad de penetración y es absorbida por los cromóforos celulares (como el ácido urocánico), los precursores de la melanina y la rivo flavina, dichos cromóforos expuestos a la luz generan ERO, que dañan los lípidos, las proteínas y el ADN (20,23).

La radiación UV de 245 a 290 nm es absorbida al máximo por el ADN y es capaz de producir cambios en él, la radiación UVB es la que más induce mutaciones, éstas se producen debido a un cambio químico e incluyen dímeros de ciclobutano dímeros de pirimidina y fotoproductos (6-4) formados entre bases de pirimidina adyacentes. La radiación UVA y UVB en menor medida pueden dañar el ADN mediante la generación de ERO que dañan también lípidos y proteínas. La mutagénesis por la radiación UVA implica al ácido trans-urocánico y la 8-hidroxi-guanina, que produce oxígeno singlete y daños en el ADN. El ADN mitocondrial presenta tasas de mutación más altas que el ADN nuclear

debido a sus ineficaces mecanismos de reconocimiento y reparación y a su proximidad con las ERO producidas durante la cadena respiratoria, la mutación mitocondrial más habitual es la de la “deleción común” que consiste en 4977 pares de bases y está asociada a la exposición a los rayos UVA (23).

Es importante señalar que las ERO pueden generarse tanto en condiciones patológicas como en condiciones fisiológicas. Las células fagocíticas como los linfocitos polinucleares y los macrófagos presentes en la piel producen grandes cantidades de ERO debido a las grandes cantidades de la enzima NADPH oxidasa. Además, la presencia de estas células en la piel inflamada produce niveles altos de superóxido y puede liberar iones catalíticos de la ferritina y de hierro en combinación con las ERO, causando daños adicionales en la piel. Las ERO dañan también a los ácidos grasos polinsaturados mediante el proceso de peroxidación de los lípidos presentes en las membranas, los que provoca daños en la estructura epidérmica y muerte celular (24).

Durante la inflamación mediada por ERO a nivel cutáneo uno de los eventos que tiene lugar es la activación de los factores de transcripción como el factor nuclear Kappa B (NF κ B) y la proteína activadora-1 (AP-1), estos factores son responsables de una gran cantidad de procesos degenerativos asociados al envejecimiento como la remodelación de los tejidos, la oncogénesis y la apoptosis. La exposición a la luz UV promueve también la expresión de la ciclooxigenasa inducible (COX-2) y la lipooxigenasa (LOX) que producen a su vez un aumento de mediadores proinflamatorios como las prostaglandinas y los tromboxanos (**Figura 5**).

La piel envejecida muestra una gran acumulación de proteínas oxidadas en la dermis superior que son resultado de la disminución de enzimas antioxidantes provocada por la radiación UV, como consecuencia a la acumulación de proteínas oxidadas y reticuladas se ocasiona la agregación de proteínas y lipofuscina que inhiben progresivamente todas las actividades del proteasoma que además disminuye con la edad (20).

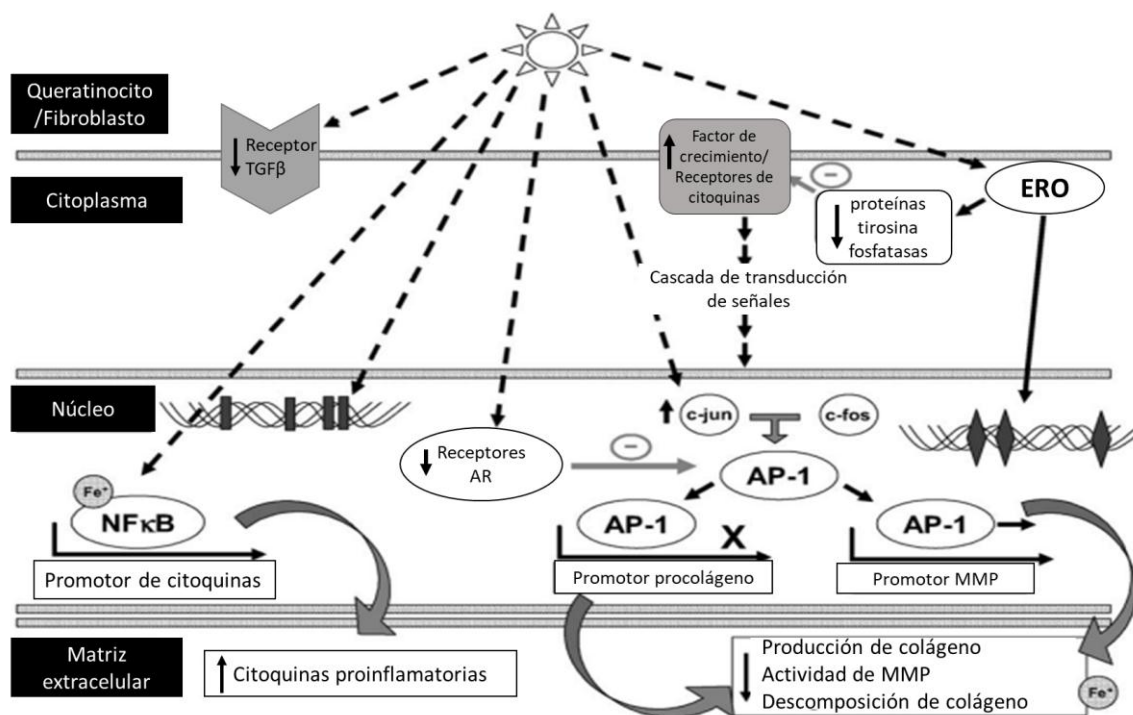


Figura 5. Impacto del estrés oxidativo en el envejecimiento cutáneo. Tomado de (23).

Los polifenoles: síntesis y características químicas

Los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios, lo que significa que no participan directamente en las funciones biológicas vitales de las plantas tales como la fotosíntesis, respiración, asimilación de nutrientes, transporte de solutos o la síntesis de proteínas, carbohidratos o lípidos. Se encuentran ampliamente distribuidos en el reino vegetal en algunas plantas y pueden aparecer en diversas formas tanto en forma libre como glucosilados o acilados y en estructuras oligoméricas y polimerizadas, también pueden encontrarse ligados a componentes de la matriz vegetal como las paredes celulares (25,26).

Los polifenoles están estrechamente relacionados con algunas características de las plantas como el sabor, el color, la palatabilidad y el valor nutricional, además participan en funciones de defensa frente a estímulos de diversa índole o situaciones de estrés (27,28). Las diferencias estructurales de los compuestos fenólicos condicionan sus propiedades tales como la solubilidad, polaridad y estabilidad (26).

Los polifenoles se caracterizan por tener uno o más anillos fenólicos en su estructura, es en base a la cantidad de estos anillos y los grupos funcionales que poseen que los polifenoles se clasifican en distintas clases y subclases. Entre los principales grupos de polifenoles se encuentran los ácidos fenólicos (derivados del ácido hidroxibenzoico o del ácido hidroxicinámico), estilbenos, lignanos, alcoholes fenólicos y flavonoides (27) (**Figura 6**).

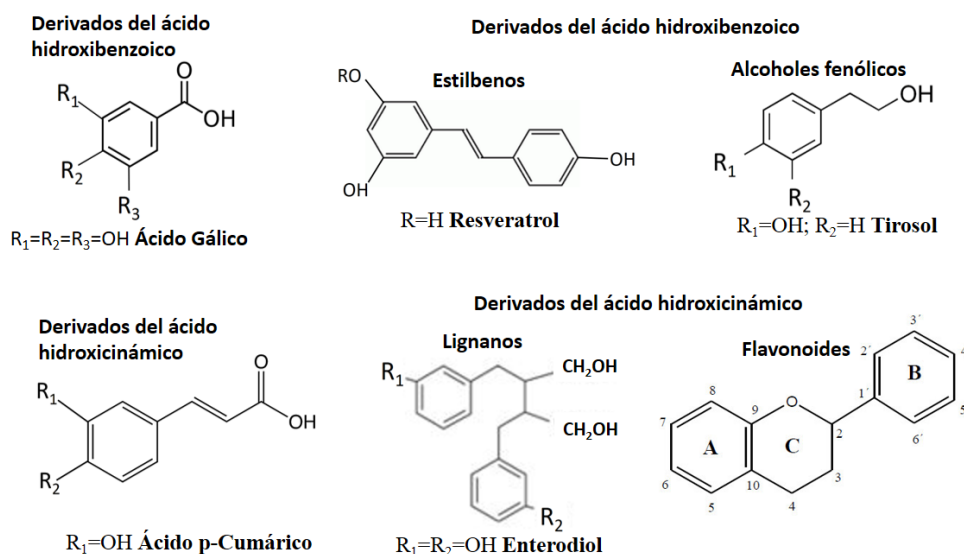


Figura 6. Núcleo estructural de los principales polifenoles. Se indican los sustituyentes según corresponden a cada estructura y se numeran los carbonos del núcleo estructural de los flavonoides (27).

Los ácidos hidroxicinámicos, por su parte tienen una estructura C₆-C₃ y han sido reconocidos por sus propiedades antioxidantes y antiinflamatorias, dentro de los que encontramos a los ácidos cafeico, ferúlico y cumárico que pueden encontrarse como derivados glicosilados o esterificados con ácido quínico, siquímico o tartárico (29).

Los flavonoides son compuestos fenólicos ampliamente distribuidos en el reino de las plantas caracterizados por poseer un esqueleto carbonado del tipo difenil 1,3-propano que comprende 15 átomos de carbono distribuidos en dos anillos de benceno denominados A y B unidos entre sí por la estructura de cromano con tres carbonos. Existen varios subgrupos de flavonoides según el grado de insaturación y oxidación del heterociclo, a saber: flavonas, flavanonas, flavanos e isoflavonas. Los flavonoides generalmente existen en la naturaleza en forma hidroxilada, aunque la presencia de carbohidratos o grupos metilo en

hidroxilos fenólicos es muy frecuente. Dentro de este grupo encontramos compuestos como como la epigallocatequina galato, la miricetina y la quercetina (30).

Las proantocianidinas o taninos condensados son oligómeros o polímeros de flavan-3-ols y flavan-3,4-dioles, las que pueden clasificarse en dos categorías según su grado de polimerización de unidades monoméricas: oligómeros (desde dímeros a pentámeros) y polímeros (a partir de hexámeros) (30).

Una de las rutas a través de las cuales se originan los polifenoles es la ruta del ácido shikímico que comienza con el acoplamiento del fosfoenolpiruvato (PEP) y la D-eritrosa-4-fosfato que producen el ácido 3-deoxi-Darabino-heptusolónico-7-fosfato (DAHP), esta reacción se da catalizada por enzimas preferentemente. El ácido fosfórico del DAHP se elimina por una oxidación que genera un enol debido a la presencia del NAD^+ , se forma un intermediario que mediante un rearrreglo se transforma en ácido 3-dehidroquinico. Este último puede ser reducido a ácido quinico en presencia de NADH y de la enzima que oxidó el DAHP. El ácido shikímico se forma por la deshidratación del ácido 3-dehidroquinico, formando primero el ácido 3-dehidroshikímico que se reduce gracias al NADH (**Figura 7**) (25).

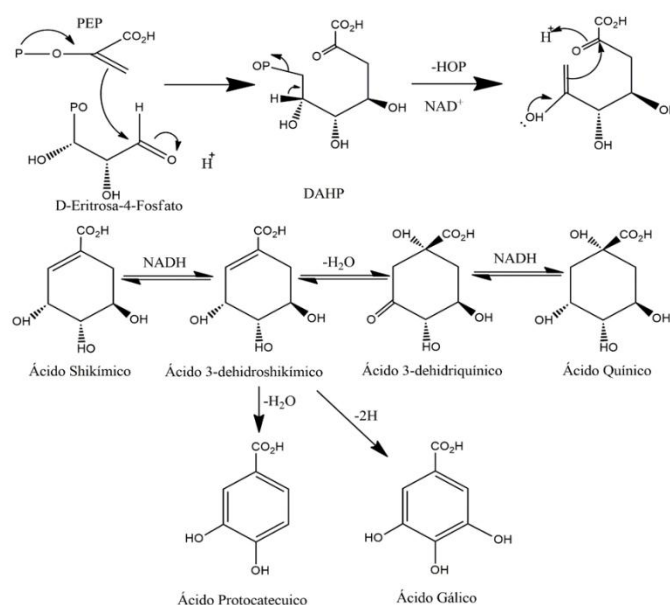


Figura 7. Formación del ácido shikímico y formación del ácido protocatecuínico y gálico (25).

Algunos fenoles simples derivan directamente del ácido shikímico como el caso del ácido protocatequínico y el ácido gálico que se forman a partir del ácido 3-dehidroshiquímico (**Figura 7**). Sin embargo, la ruta del ácido shikímico puede continuar con la adición de otra molécula de PEP formando así la fenilalanina que en el metabolismo secundario de la planta sufre la eliminación de un grupo amonio por la acción de la enzima fenilalanina amonioliasa, formando el ácido trans-cinámico que incorpora un grupo hidroxilo en el anillo y se transforma en ácido p-cumárico, posteriormente la CoA-ligasa lo convierte en p-cumaroilCoA (**Figura 8**) que es el precursor de la mayoría de los fenoles de origen vegetal entre ellos los ácidos hidroxicinámicos (27).

La ruta de los poliacetatos también es importante para la formación de algunos polifenoles ya que de ella se obtienen precursores que se utilizarán en conjunto con compuestos obtenidos de la vía del ácido shikímico en una ruta mixta que llevará a la formación de algunos compuestos fenólicos como es el caso de los flavonoides (**Figura 8**) (27).

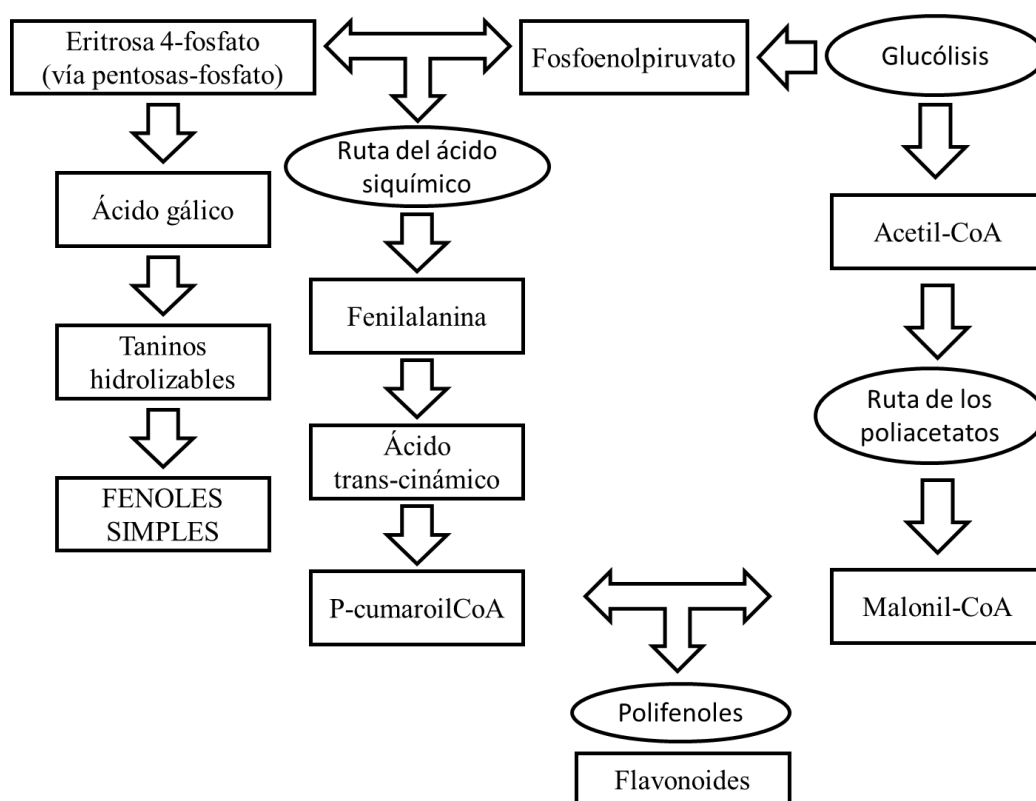


Figura 8. Ruta biosintética de los polifenoles en las plantas (27).

Las proantocianidinas o taninos condensados son oligómeros con 2 a 6 núcleos fenólicos, se forman por un mecanismo biológico que aún no es bien conocido, sin embargo, se sabe que derivan de una síntesis mixta de la ruta del ácido shikímico y de la ruta de la malonilCoA que forman flavan 3-4-dioles que posteriormente se condensan por un mecanismo biológico que aún no es bien conocido (31,32).

Los polifenoles como agentes antienviejimiento

Las propiedades antioxidantes de los polifenoles y su participación en las reacciones metabólicas de óxido-reducción son la causa principal de los beneficios de estos compuestos tanto como agentes antienviejimiento, antitrombóticos, antilipémicos, antiinflamatorios y antiapoptóticos. Los polifenoles tienen la capacidad de modular la actividad de diversas enzimas y, por tanto, afectar vías de señalización y procesos celulares (27). O sea que sus beneficios en el envejecimiento cutáneo pueden explicarse a partir de su reconocida actividad antioxidante y también de su capacidad de interferir en vías de señalización implicadas en este proceso. Varios polifenoles se han reconocido como agentes anti-envejecimiento, los más reconocidos son el resveratrol, la epigallocatequina-3-galato y la genisteína (**Figura 9**).

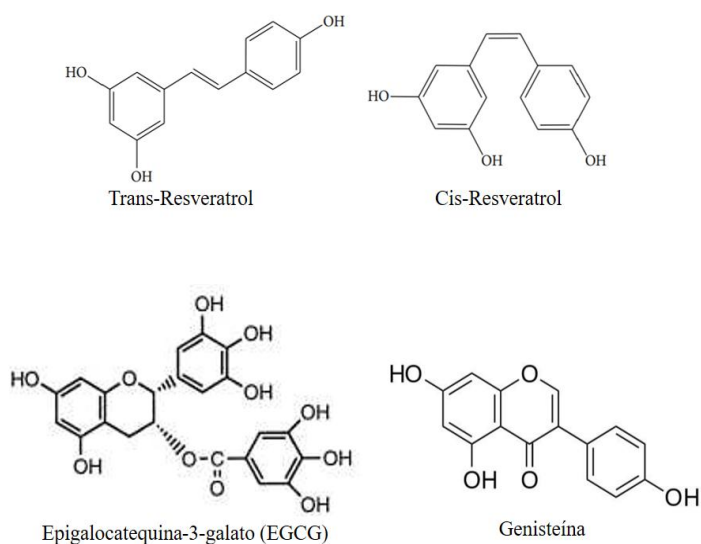


Figura 9. Estructura química de algunos polifenoles con efecto anti-envejecimiento.

El resveratrol (3, 4, 5' trihidroxiestilbeno) es una fitoalexina perteneciente al grupo de los flavonoides, existen dos isómeros de este compuesto, el trans-resveratrol y el cis-resveratrol, siendo el primero el que ha demostrado tener más propiedades beneficiosas para la salud (33). El resveratrol posee actividades antioxidantes, antiinflamatorias, antimicrobianas y una alta capacidad antifúngica (34).

Se considera que las propiedades antienvjecimiento del resveratrol se deben a su capacidad para regular la inflamación y el estrés oxidativo. Según estudios, el resveratrol presenta acción antiapoptótica al ser usado como radioligando, ya que actúa sobre sitios específicos de unión a polifenoles de la membrana plasmática (especialmente en la epidermis) expuesta al óxido nítrico (NO). También bloquea la activación de la ruta del factor nuclear kappa (NF- κ B) mediada por los rayos UVB en los queratinocitos epidérmicos normales, además los protege del daño por estrés oxidativo inducido por los rayos UVA mediante la regulación de la expresión de la proteína 1 asociada a ECH tipo Kelch (Keap1) (35).

Según estudios in vivo en los que se aplicó resveratrol en forma tópica a ratones sin pelo, se observaron inhibiciones significativas de los efectos inducidos por los rayos UVB como disminuciones en: edema e hiperplasia de la piel, inflamación, infiltración de leucocitos en dermis y epidermis, nivel de ciclooxigenasa-2 (COX-2), ornitina descarboxilasa (ODC), peróxido de hidrógeno (H₂O₂) peroxidación lipídica, nivel de antígeno nuclear de células proliferante (PCNA) en la epidermis y marcadores de promoción tumoral (35).

La epigallocatequina-3-galato (EGCG) es un derivado del té verde perteneciente a la familia de los flavanoles, este compuesto muestra propiedades antiinflamatorias, antioxidantes y de reparación del ADN. Según un experimento en células HaCaT, el EGCG logró reducir la muerte celular por SNP. En otro estudio, el EGCG mostró sobre un cultivo de fibroblastos humanos la capacidad de bloquear la secreción de colágeno inducida por los rayos UV y de inhibir la unión de los factores de transcripción (NF- κ B) y la activación de la proteína (AP-1). En queratinocitos normales el tratamiento con EGCG es capaz de inhibir la liberación de H₂O₂ intracelular inducida por los rayos UVB, al mismo tiempo puede inhibir la fosforilación del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGF-R) y la vía de las MAPKs (35).

En otro experimento, el tratamiento tópico con EGCG en piel humana logró la reducción de: la infiltración de leucocitos inflamatorios inducidos por rayos UVB, la infiltración de NO y H₂O₂, producción de metabolitos de prostaglandina (PG) inducida por rayos UVB. Estudios independientes han mostrado un efecto foto protector excepcionalmente alto del EGCG contra la peroxidación lipídica y la merma de las enzimas de defensa antioxidante. Además, un estudio que evaluaba mecanismos de reparación del ADN sugirió que la rápida reparación de los dímeros de pirimidina de ciclobutano (CPDs) debido a la aplicación tópica de EGCG está mediada por la estimulación de la interleucina-12 (IL-12) (35).

La genisteína es una aglicona perteneciente al grupo de las isoflavonas que se obtienen de la soja, es un potente antioxidante, un inhibidor de la enzima tirosina quinasa y un fitoestrógeno, tiene efectos anticarcinógenicos y antienvjecimiento. Un estudio mostró que la genisteína puede disminuir los niveles de H₂O₂ en los queratinocitos humanos inducidos por los rayos UVB, otro estudio realizado en fibroblastos probó que la genisteína protege las características asociadas a la senescencia mediante actividades enzimáticas antioxidantes y regulación del estrés oxidativo mitocondrial y de la regulación por decremento de la vía de señalización dependiente del (p66Shc) (35).

Un estudio *in vivo* demostró que la genisteína en la piel humana es capaz de inhibir la actividad del EGF-R de la tirosina quinasa, así como la señalización extracelular regulada por quinasa (ERK) y de la JNK, Sin embargo, en el mismo estudio se indicó que la genisteína no es un buen filtro solar. Otro estudio en ratas de edad avanzada observó un efecto benéfico a largo plazo con tratamiento sistémico de cisteína para revertir cambios moleculares, histológicos y funcionales de la piel relacionados con ovariectomía, por ejemplo, la disminución del factor de crecimiento transformante beta-1 (TGF-β1) y del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) (35).

Características generales del aguacate (*Persea americana* Mill. cultivar Hass)

El aguacate (*Persea americana* Mill.) es un árbol perteneciente a la familia *Lauraceae*, que comprende alrededor de 2200 especies entre la que destacan el laurel (*Laurus nobilis* L.), el alcanfor (*Cinnamomum camphora* L. Siebold.) y la canela (*Cinnamomum verum* J. Presl.), siendo el aguacate la especie de mayor importancia comercial y económica (36).

El aguacate se divide en tres variedades botánicas: *Persea americana* Mill. var. *drymifolia* conocida como raza mexicana, *Persea nubigena* Mill. var. *guatemalensis* que corresponde a la especie guatemalteca y *Persea americana* Mill. var. *americana* correspondiente a la especie de las indias occidentales o también conocida como raza antillana (37).

La raza mexicana de aguacate se originó de los ejemplares de *Persea americana* provenientes del centro y este de México, mientras que la especie guatemalteca proviene de las zonas altas de Guatemala y la raza antillana desciende de las primeras plantas encontradas en las tierras bajas de Las Antillas. Las variedades más aceptadas en el mercado internacional son la guatemalteca y la mexicana, principalmente las variedades ‘Hass’, ‘Fuerte’ y ‘Nabal’ (36,37).

El fruto del aguacate es una baya monosperma cuyas características pueden variar, puede tener un tamaño, forma, corteza, pulpa y semilla diferentes dependiendo de la variedad a la pertenezca. Su contenido de azúcares es bajo en comparación a otras frutas, sin embargo, posee el contenido de proteínas más alto que cualquier otra fruta fresca. Las vitaminas liposolubles, sales minerales y ácidos orgánicos abundantes que contiene son algunos de los atributos que lo hacen una fruta atractiva (38).

Características taxonómicas de la especie *Persea americana* Mill.

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Laurales

Familia: Lauraceae

Género: *Persea*

Especie: *Persea americana* Mill (36).

El cultivo del aguacate se localiza en regiones tropicales (Guatemala, República Dominicana, Perú, Colombia) y subtropicales (México, Estados Unidos, Chile, Argentina) del planeta, a una altura de 800 y 2500 metros sobre el nivel del mar (38,39).

Origen

El origen del aguacate es difícil de precisar, se sabe que la familia Lauraceae se originó en Laurasia a partir de los antepasados de Gondwana (África) y posteriormente una parte de esta familia incluyendo al clado Perseae migró a América del Norte (40).

Los progenitores del aguacate moderno se originaron en el área de la actual Sierra Nevada en California hace aproximadamente 60 millones de años, en esta época la región presentaba clima tropical y una gran diversidad de flora (41).

Según la evidencia, el cambio climático producido por las glaciaciones durante el paleoceno provocó la migración de los antepasados del aguacate de América del Norte hacia el sur, para finalmente establecerse en Mesoamérica entre los años 16 000 y 8 000 a. C. (40).

El consumo y cultivo del aguacate comenzó en épocas tempranas por los primeros grupos que habitaron el área de Mesoamérica alrededor del año 6500 a. C., es probable que estos grupos comenzaran la selección y domesticación del aguacate cuando consumían y seleccionaban variedades ancestrales de la fruta, dando paso así a la creación de las tres variedades de aguacate (41).

La diseminación del aguacate a través del continente americano puede ser el resultado del intercambio comercial entre las distintas culturas que se extendían desde Mesoamérica hasta el sur de América. En Perú fueron descubiertas por arqueólogos semillas de *Persea*, las cuales fueron encontradas con momias incas enterradas alrededor del año 750 a. C. (36,40).

Después de la llegada de los españoles, a estos les agradó tanto este fruto que lo distribuyeron a sus diferentes colonias en el hemisferio oriental y a Europa. El aguacate fue introducido a Indonesia en 1750, a Filipinas en 1850 y a Israel en 1908 (40).

Descripción botánica

El árbol de aguacate puede llegar a medir hasta 20 metros de altura, no obstante, en las huertas comerciales sólo se dejan crecer alrededor de los 5 metros, esto para permitir las prácticas de control fitosanitario, fertilización y cosecha. Esta especie posee un tronco

grueso con ramificaciones, de las cuales crecen hojas abundantes que producen un follaje perenne denso (36).

Las hojas del árbol miden entre 10 y 30 cm de largo, son de forma ovalada o elíptica, de color verde oscuro, lustrosas en el haz y pálidas por el envés y con pelos cortos en las nervaduras. Los pecíolos son delgados y miden de 2 a 6 cm de largo. Alrededor de las terminaciones de las ramas presenta abundantes inflorescencias panículas grisáceo-puberulentas de 6 a 20 cm de largo. Sus pedicelos son delgados y miden de 3 a 6 mm de largo y el perianto es pálido (38).

El fruto es una baya monosperma generalmente con forma similar a la pera. El peso y la forma del fruto pueden cambiar dependiendo de la variedad a la que pertenezcan, oscilando en un rango de 150 a 350 gr. Presenta una cáscara rugosa cuyo color varía dependiendo del estado de maduración, que puede ir del color verde claro a verde oscuro y de violeta a negro (36).

El mesocarpio del fruto es carnosos y de color verde amarillento al igual que el endocarpio, el cual contiene una sola semilla de gran tamaño que puede abarcar del 12 al 28 % del peso total de la fruta (38).

El cultivar ‘Hass’ posee genes en su mayoría guatemaltecos y 1/6 de genes mexicanos que le confieren una mejor resistencia al clima frío. La temperatura óptima para la producción de esta variedad de aguacate oscila entre 17.9 - 19.7 °C en condiciones templadas estables, libres de estrés. Este frutal requiere de una precipitación de 1200 – 1600 mm distribuidos durante el año, pero se recomiendan riegos durante la floración y el amarre del fruto. El tipo de suelo recomendable para este árbol es el andosol con un pH de 5.0 a 7.0, con más ventajas hacia la tendencia ácida (42).

Importancia económica

El árbol *Persea americana* Mill. es uno de los cultivos tropicales más importantes del mundo con una producción anual por encima de 3.5 millones de toneladas, de las que se comercializa en el mercado internacional un 20% (43).

El aguacate es un fruto cuya demanda ha ido en aumento en los últimos años, siendo el cultivar ‘Hass’ el más comercializado en la actualidad debido a su buena aceptación en el

mercado internacional como un alimento alto en proteínas y minerales y como una excelente fuente de energía (36,42).

México es el principal productor de aguacate en el mundo, ocupa este lugar gracias a sus 149 185 hectáreas productoras de este fruto de las cuales la mayoría se localizan en el estado de Michoacán y aportan el 94.9% de la producción nacional con 145 092 toneladas anuales (44).

En Michoacán el aguacate genera grandes beneficios económicos a todos los que participan en la cadena de producción, esto incluye tanto a productores como trabajadores eventuales y permanentes para labores de cultivo, cosecha, y manejo poscosecha, a los comercializadores e industrializadores. También es una fuente de empleo ya que por cada 10ha de cultivo da ocupación a 1.5 hombres (42).

Propiedades nutricionales de fruto

El principal componente de la pulpa del aguacate son los lípidos que se encuentran en un porcentaje de 10% a 30% dependiendo de la variedad de aguacate y la estación del año. El contenido de ácidos grasos monoinsaturados es aproximadamente de 15 g/ 100g de fruta, de los cuales el ácido oleico es el más abundante con un 58% (**Tabla 1**) (45).

El fruto de *Persea americana* Mill. var. ‘Hass’ contiene una gran diversidad de nutrientes entre los que destacan el potasio, magnesio, vitamina A, C, E, K, niacina, riboflavina, ácido pantoténico, folato, piridoxina y una alta cantidad de fibra dietética, además de la alta concentración de ácidos grasos monoinsaturados (45).

Tabla 1. Composición nutrimental de la pulpa de aguacate.

Componente	Cantidad	Unidad	Mínimo	Máximo
Agua	73.23	g	64.4	83.8
Proteína	2	g	1.53	3
Lípidos totales	14.66	g	8.4	23.2
Ceniza	1.58	g	0.82	2.8
Fibra dietética	6.7	g	3.2	12.7
Azúcares totales	0.66	g	0	2.42
Sacarosa	0.06	g	0	0.15
Glucosa (dextrosa)	0.37	g	0.06	2.17
Fructosa	0.12	g	0.07	0.25

Lactosa	0	g	0	0
Maltosa	0	g	0	0
Galactosa	0.1	g	0	0.3
Almidón	0.11	g	0.05	0.17
Calcio	12	mg	8	19
Hierro	0.55	mg	0.14	1.06
Magnesio	29	mg	17	34
Fósforo	52	mg	30	70
Potasio	485	mg	219	691
Sodio	7	mg	1	17
Zinc	0.64	mg	0.35	0.83
Cobre	0.19	mg	0.09	0.38
Manganeso	0.142	mg	0.07	0.19
Selenio	0.4	µg	0.2	0.6
Vitamina C	10	mg	6.3	24.1
Tiamina	0.067	mg	0.011	0.1
Rivoflavina	0.13	mg	0.037	0.18
Niacina	1.738	mg	0.357	2.51
Ácido pantoténico	1.389	mg	0.612	2.71
Vitamina B-6	0.257	mg	0.07	0.452
Folato	81	µg	14	155
Vitamina A	146	IU		
Vitamina E	2.07	mg	0.66	3.28
Vitamina K	21	µg	15.7	27
Ácidos grasos saturados totales	2.126	g		
Ácidos grasos monoinsaturados totales	9.799	g		
Ácidos grasos poliinsaturados totales	1.816	g		
Ácidos grasos trans totales	0	g		
Colesterol	0	mg		

Nota: La presente tabla describe las características nutricionales de la pulpa del aguacate por cada 100 g de fruta (46).

Entre los principales componentes de la semilla del aguacate de las variedades ‘Hass’ y ‘Fuerte’ respectivamente se encuentran: proteínas (2.4 % y 2.5 %), azúcar (3.5% y 2.2 %), lípidos neutros (2.5% y 3.2%), glicolípidos (12% - 13 %), fosfolípidos (7.4% - 10.9%), almidón (27.5 y 29, 6 %) y grasas (0.8% y 1.0%) (38). El aceite extraído de la pulpa de *Persea americana* Mill. es rico en vitamina E, glicéridos, ácido oleico, esteroides y ácidos volátiles (38).

Propiedades farmacológicas

Ciertas variedades de *Persea americana* Mill. poseen propiedades curativas variadas, por ejemplo, el aceite extraído del aguacate se utiliza para aliviar la gota y el reumatismo. La infusión de hojas de aguacate se utiliza para el alivio de los cólicos menstruales, la migraña y para combatir la fiebre (36).

A partir de las hojas y semillas de *Persea americana* Mill. han sido aislados una gran variedad de flavonoides, estos compuestos son kaempferol, quercetina-3-O-arabinopiranosidos, afzelina, quercitrina, quercetina-3-O-b-glucopiranosido y quercetina, la escopoletina es el único tipo de cumarina presente en las hojas del aguacate. Las semillas del aguacate pueden ser usadas para curar la diarrea en una preparación que consta de cenizas y semillas tostadas disueltas en agua, también se cree que su polvo puede acabar con la caspa. En Ecuador los Shuar utilizan la semilla del aguacate triturada y macerada en aguardiente para tratar las mordeduras de serpiente. Las hojas del aguacate masticadas se utilizan contra la piorrea, su jugo se utiliza como antibiótico, en decocción se emplean contra la diarrea, dolor de garganta y hemorragias, en emplastos se aplican sobre las heridas y calentadas sobre la frente alivian la neuralgia. La cáscara es considerada un antibiótico eficaz y se usa como vermífugo en casos de disentería. Los brotes tiernos en decocción se emplean contra la tos. Las raíces contienen un antibiótico eficaz (38,47).

La pulpa del aguacate también tiene varios compuestos bioactivos entre los que se encuentran carotenoides como la luteína zeaxantina, α -caroteno y criptoxantina. También es rico en vitamina B, C y E, D-manoheptulosa, β -sitosterol y persenona A y B. Todos estos componentes tienen actividad antifúngica, antitumoral y son antioxidantes (32).

Contenido de polifenoles y actividad antioxidante de extractos de aguacate

El aguacate es una fuente de moléculas con potente capacidad antioxidante incluidos los compuestos fenólicos, estas moléculas se encuentran distribuidas en varias partes del aguacate como las hojas, cáscaras, semillas y pulpa, siendo esta última la que muestra menor cantidad de moléculas antioxidantes (48). También el grado de maduración del fruto juega un papel importante en la cantidad de moléculas antioxidantes que este presenta, se ha encontrado que los aguacates en un estado de maduración más avanzado presentan mayor cantidad de antioxidantes que los óptimamente maduros (49). Los estudios

demuestran que los compuestos fenólicos, los carotenoides, tocoferoles (α -tocoferol), acetogeninas (persenona A y persina), vitaminas B, C y E, fitosteroles y ácidos grasos mono y poliinsaturados son los principales antioxidantes en el aguacate (49,50).

Dentro de los compuestos más representativos identificados en el aguacate se encuentran los ácidos hidroxicinámicos que están principalmente asociados a las paredes celulares formando enlaces ésteres, amidas o glucósidos con celulosa, hemicelulosa, arabinosilanos, lignina, pectina, proteínas y otros constituyentes (50). El ácido cumárico es el principal ácido hidroxicinámico monomérico que se ha reportado en extractos metanólicos de pulpa de aguacate en concentraciones de 27 a 47 $\mu\text{g/g}$ ps, seguido del ácido ferúlico, ácido cafeico, ácido sinápico y ácido trans-cinámico.

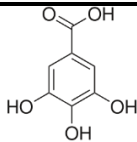
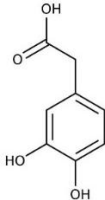
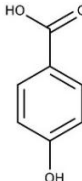
Los ácidos hidroxicinámicos conjugados presentes en el aguacate son principalmente conjugados con azúcares y ácido quínico. La pulpa de aguacate contiene ácido 5-feruloilquínico (76.2-115.5 $\mu\text{g/g}$ ps), seguido del glucósido del ácido p-cumárico (84.4-93.5 $\mu\text{g/g}$ ps), el glucósido del ácido ferúlico (19.5-24.4 $\mu\text{g/g}$ ps) y el rutinósido del ácido p-cumárico (16.4-35.8 $\mu\text{g/g}$ ps), entre otros. En semilla de aguacate, los derivados del ácido cafeico son los principales compuestos fenólicos reportados, incluido el ácido trans-5-O-cafeoil-D-quínico (1630-5740 $\mu\text{g/g}$ ps), ácido 1-cafeoilquínico (1123-2438 $\mu\text{g/g}$ ps), ácido 4-cafeoilquínico (66.9-103.9 $\mu\text{g/g}$ ps), ácido 3-O-cafeoilquínico (53.5-57.5 $\mu\text{g/g}$ ps), y un derivado conjugado de ácido cumárico; el ácido 3-O-p-cumaroilquínico (8.1-375.6 $\mu\text{g/g}$ ps). En cáscara de aguacate, el ácido 5-O-cafeoilquínico (77.4-81.8 $\mu\text{g/g}$ ps) y el ácido clorogénico (1592.4-1989.9 $\mu\text{g/g}$ ps) son los compuestos de este grupo mayoritariamente reportados (50).

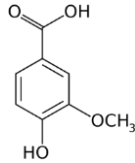
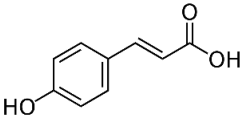
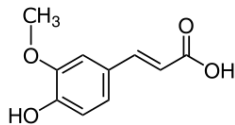
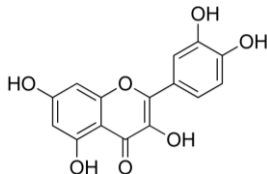
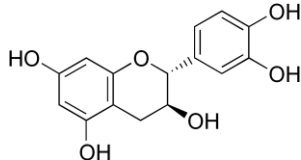
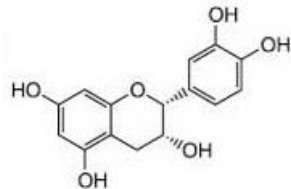
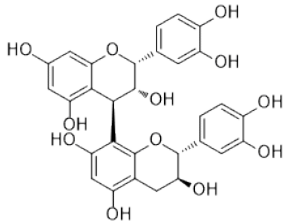
Las subclases de flavonoides en la fruta del aguacate incluyen agliconas, glucósidos y grupos metilados. Los principales flavonoides específicos informados en la fruta del aguacate incluyen flavan-3-oles (catequina, epicatequina y galato de epicatequina) (**Tabla 2**), flavonoles (rutina, isorhamnetina, narirutina y quercetina) y flavanonoles (taxifolina). La naringenina también se ha identificado en la cáscara del aguacate, pero no se ha cuantificado (51).

En cuanto a las procianidinas presentes en el aguacate, Rosero et al. (2019) reportaron dos tipos de tipos procianidinas de tipo A (1 dímero y 1 trímero) y 7 de tipo B (cuatro dímeros

y tres trímeros) en semillas y cáscaras de aguacate (52). Wang et al. (2010) identificaron procianidinas de tipo A y tipo B, a partir de monómeros decaméricos y polímeros, en las semillas (23.7-55.6 mg/g ps) y cáscaras (4.9-38.9 mg/g ps) de 8 cultivares de aguacate (53). Estos autores también reportaron que los aguacates de las variedades 'Simmonds', 'Hass', 'Tonnage' y 'Booth' tenían un alto contenido de procianidinas en las semillas, mientras que las cáscaras de los aguacates 'Hass' tenían el contenido más alto de PAC. Estos hallazgos coincidieron con Tremocoldi et al. (2018) quienes reportaron que la cáscara de aguacate 'Hass' contiene una mayor concentración de procianidinas tipo B2 (48.38 mg/g ps) en comparación con las cáscaras de aguacate 'Fuerte' (28.34 mg/g ps) (54). Los dímeros tipo A (0.026 mg/g ps) son un componente menor en comparación con los dímeros tipo B (0.055-0.135 mg/g ps) en la cáscara del aguacate 'Hass' y no se encontraron en el aguacate 'Shepard'. Se encontraron trímeros de tipo A en las semillas de aguacates 'Hass' (0.085 mg/g ps) y 'Shepard' (0.086 mg/g ps) (55). Esto sugiere que el cultivar de aguacate y los componentes morfológicos y anatómicos del fruto afectan significativamente el contenido y grado de polimerización de procianidinas.

Tabla 2. Algunos compuestos fenólicos presentes en diferentes partes y productos derivados del aguacate.

COMPUESTO	FUENTE	ESTRUCTURA
Ácido gálico	Aceite de la pulpa	
Ácido 3,4-dihidroxifenilacético	Aceite de la pulpa	
Ácido 4-hidroxibenzoico	Aceite de la pulpa	

Ácido vanílico	Aceite de la pulpa	
Ácido p-cumárico	Aceite de la pulpa	
Ácido ferúlico	Aceite de la pulpa	
Quercetina	Aceite de la pulpa	
(+)-Catequina	Subproductos	
(-)-Epicatequina	Subproductos	
Proantocianidina B1	Semillas	

Sustancias usadas para atenuar el envejecimiento cutáneo

La dermatología estética busca tratar o prevenir trastornos de la piel y retrasar el envejecimiento mediante estrategias que intentan revertir los signos dérmicos y epidérmicos del envejecimiento fotográfico y cronológico, entre estas destacan el uso de

protector solar para reducir la exposición a los rayos UV, uso de retinoides para favorecer la formación de colágeno y reducir la síntesis de colagenasa y uso de antioxidantes principalmente combinados para reducir y neutralizar los radicales libres (56).

Compuestos de origen sintético

Retinoides tópicos

La Vitamina A es importante para el crecimiento y diferenciación epidérmicos, así como para el mantenimiento de la integridad del tejido dérmico. Existen en el mercado numerosos derivados tópicos de la Vitamina A conocidos como retinoides. De hecho, existen diversos estudios clínicos que documentan la efectividad del ácido retinoico (tretinoína) para reparar la piel fotoenvejecida a nivel clínico, histológico y molecular. La tretinoína tópica produce una reducción significativa de la presencia de arrugas, la laxitud, hiperpigmentación y rojez en la piel fotoenvejecida. Estos resultados se deben a la disminución del grosor epidérmico, compactación del estrato córneo, decrecimiento en el contenido de melanina y estimulación de la síntesis de colágeno, así como la generación de nuevos vasos sanguíneos. El tazaroteno, un retinoide tópico posee efectos similares a la tretinoína. Otros retinoides también utilizados para atenuar el envejecimiento incluyen el retinol y el retinaldehído (57).

Antioxidantes

Como se expuso anteriormente, la radiación ultravioleta y la contaminación ambiental resulta en la generación de ERO y otros radicales en la piel. Esto induce cambios histológicos y clínicos relacionados con el fotodaño. Para contrarrestar estos efectos, la piel está equipada de un sistema de defensa antioxidante. Dos importantes componentes de este sistema son las vitaminas C y E. Los efectos antioxidantes de la vitamina C incluyen la neutralización de la superproducción de radicales libres y la regeneración de la Vitamina E, mientras que la vitamina E protege las membranas celulares de la peroxidación (58).

La piel normal contiene altas concentraciones de vitamina C, con niveles comparables a otros tejidos corporales y muy por encima de las concentraciones plasmáticas, lo que sugiere una acumulación activa de la circulación. La mayor parte de la vitamina C en la piel parece estar en compartimentos intracelulares, con concentraciones probablemente en el rango milimolar. Se transporta a las células desde los vasos sanguíneos presentes en la

capa dérmica. Se ha indicado que los niveles de vitamina C son más bajos en la piel envejecida o fotodañada. Se desconoce si esta asociación refleja causa o efecto, pero también se ha informado que la exposición excesiva al estrés oxidativo a través de contaminantes o irradiación UV se asocia con niveles reducidos de vitamina C a nivel epidérmico (59).

La vitamina C actúa como un cofactor de las hidroxilasas de prolina y lisina que estabilizan la estructura terciaria de la molécula de colágeno, y también promueve la expresión del gen del colágeno. En la piel, la formación de colágeno es realizada principalmente por los fibroblastos dérmicos, lo que resulta en la generación de la membrana basal y la matriz de colágeno dérmico. La dependencia de las enzimas colágeno hidroxilasa de la vitamina C se ha demostrado en varios estudios con células de fibroblastos in vitro, con disminución de la síntesis total y disminución de la reticulación cuando la vitamina C está ausente (58).

La vitamina E o tocoferol es el principal antioxidante no enzimático soluble en lípidos que se presenta naturalmente en la piel y la protege de los efectos adversos del estrés oxidativo, incluido el fotoenvejecimiento. Además de sus propiedades antioxidantes, otros efectos biológicos se atribuyen al tocoferol. Uno de ellos incluye el metabolismo del ácido araquidónico que está mediado por el tocoferol. Las complejas interacciones con el sistema de eicosanoides parecen resultar en una inhibición de la síntesis de prostaglandinas. La vitamina E disminuye la biosíntesis de prostaglandina E2 al prevenir la liberación de ácido araquidónico por la fosfolipasa A2. La actividad de la ciclooxigenasa está modulada de manera dosis-dependiente por el tocoferol: concentraciones bajas conducen a la inhibición y las altas a la activación de la enzima. Esta disminución en la síntesis de prostaglandinas regula la inflamación cutánea que ocurre en los procesos de fotoenvejecimiento (60).

Toxina botulínica

Desde la década de los 70's, el *Clostridium botulinum* se ha usado como agente terapéutico. Resultan conocidos sus efectos benéficos en el rejuvenecimiento facial mediado por el bloqueo en la liberación de la acetilcolina, lo que genera una paresia química temporal eliminando la contracción muscular que resulta en la formación de arrugas dinámicas ligadas al proceso de envejecimiento. Existen en el mercado múltiples

preparaciones de toxina botulínica A y B, las que requieren dosificaciones diferentes, y cuyos efectos se manifiestan de 1 a 3 días después de la inyección y duran aproximadamente 6 meses (61).

Compuestos de origen natural

Durante mucho tiempo se ha creído que los ingredientes naturales en forma de fitonutrientes, metabolitos microbianos, activos derivados de los lácteos, nutrientes minerales y componentes de proteínas animales benefician el envejecimiento cutáneo. La evidencia científica reciente ha servido para fortalecer este concepto y validar la eficacia de varios activos naturales a nivel molecular en la piel. Estos hallazgos, junto con estudios clínicos exitosos, han ayudado a establecer el papel de los compuestos naturales, apoyando la belleza desde adentro, en forma de nutricosméticos, y desde afuera, como cosmeceúticos (62).

La creciente gama de activos naturales en los productos cosméticos convencionales es una prueba amplia de que la industria ahora depende en gran medida de estos ingredientes. El mercado mundial de cosmeceúticos, inicialmente dominado por terapias para el acné como los retinoides y agentes aclaradores de la piel como la hidroquinona, experimentó un cambio significativo hacia el sector antienvjecimiento, y más específicamente hacia los activos naturales antienvjecimiento, en la última década. De hecho, se ha postulado que la demanda de productos antienvjecimiento está creciendo al doble comparativamente a la tasa de otros productos cosmeceúticos (62).

Agentes hidratantes

La hidratación es importante para preservar la integridad y el tono de la piel. En general, los ácidos grasos insaturados refuerzan la función barrera de la piel, previenen la pérdida de humedad a través de la epidermis, aportan integridad estructural a la piel envejecida por influencias externas y son antiinflamatorios. También ayudan a suavizar la piel al inhibir la formación de células córneas (62).

Los humectantes tópicos naturales pueden nutrir, tonificar y fortalecer el estrato córneo de la piel representando una aplicación innovadora de extractos naturales en productos para el cuidado de la piel. Un ejemplo es el aceite de semilla de cilantro, una rica fuente de ácido petroselinico, ácido linoleico y ácidos grasos relacionados (63). Los polisacáridos (como

quitosano y derivados), glicanos de bajo peso molecular (polisacáridos de semillas de tamarindo, por ejemplo), también evitan la pérdida de agua de la piel (64).

Aceites como la manteca de karité, la manteca de cacao y los derivados del aceite de coco, son otros productos naturales que apoyan la textura y la hidratación de la piel (65). Ingredientes a base de frutas como agua de coco verde, rica en nutrientes, aminoácidos (incluida la arginina) un precursor de la urea y factores de crecimiento, también apoyan la hidratación y preservan la elasticidad de la piel que se va perdiendo durante el envejecimiento (66).

Alfa y beta hidroxiácidos

Los alfa y beta-hidroxiácidos son sustancias naturales que pueden encontrarse en frutas, vino, leche y azúcar de caña. Los alfa-hidroxiácidos (AHA) incluyen ácido glicólico (GA), ácido cítrico (CA), ácido málico (MA), ácido tartárico (TA) y ácido láctico (LA). Estructuralmente, los AHA son ácidos orgánicos débiles con uno o más grupos hidroxilo unidos al carbono alfa, que es el primer carbono después del grupo ácido (**Figura 10**).

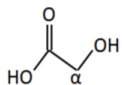
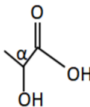
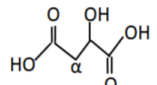
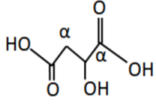
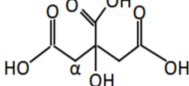
AHAs		Estructura	Peso molecular
Ácido glicólico	$C_2H_4O_3$		72
Ácido láctico	$C_3H_6O_3$		90
Ácido málico	$C_4H_6O_5$		134
Ácido tartárico	$C_4H_6O_6$		150
Ácido cítrico	$C_6H_8O_7$		192

Figura 10. Estructura química de los alfa-hidroxiácidos comúnmente usados en dermatología para retrasar el envejecimiento cutáneo.

En 1974, Van Scott y Yu indicaron que los AHA podrían tener efectos profundos sobre los trastornos relacionados con la queratinización (67). Los AHA se pueden utilizar para realizar peelings cutáneos con un riesgo mínimo. Los AHA disminuyen la cohesión de los corneocitos inmediatamente por encima de la capa granular al desprender y descamar el estrato córneo. Por lo tanto, las exfoliaciones con AHA han sido populares en la práctica dermatológica durante muchos años. Los AHA se suelen aplicar en forma de exfoliaciones superficiales y de profundidad media, como las que se utilizan para tratar el acné, las cicatrices, el melasma, la hiperpigmentación, las asperezas, las manchas de la edad y la seborrea. Los AHA pueden mejorar la piel arrugada propia de la piel envejecida, aumentando la síntesis de glicosaminoglicanos y engrosando la piel. Debido a estos factores, los AHA son un tratamiento muy utilizado y popular. Los informes han demostrado que los AHA pueden prevenir el desarrollo de tumores cutáneos inducidos por rayos ultravioleta (UV), y muchos dermatólogos han sugerido que los AHA también pueden desempeñar otras funciones, como la actividad antioxidante que en combinación con otras acciones ayudan a contrarrestar el envejecimiento (68).

Antioxidantes naturales

Los antioxidantes naturales que atenúan la acción deletérea de los radicales libres son un componente esencial de las formulaciones anti-envejecimiento. Potencialmente ofrecen protección contra daños a los tejidos y contra los efectos perjudiciales del medio ambiente y otros agentes. Las reacciones bioquímicas promovidas por las ERO y ERN aceleran la progresión del envejecimiento cutáneo exacerbando la inflamación cutánea, generando micro-cicatrices que se convierten en imperfecciones o arrugas (35).

Dentro de este grupo destacan los antioxidantes de fuentes naturales como el té verde, la cúrcuma, el vino rojo (resveratrol), las uvas (antocianinas), las semillas de uva (proantocianinas) y la grosella espinosa india (galotaninos) que soportan la integridad y el tono de la piel (35).

Propiedades antioxidantes y anti-envejecimiento de extractos de aguacate

La literatura muestra la existencia de una mayor cantidad de estudios acerca de las propiedades antioxidantes de extractos de cáscara de aguacate con relación a su análisis

como agentes antienviejamiento. La **Tabla 3** indica los estudios reportados para extractos de cáscara como antioxidantes.

Tabla 3. Estudios realizados con extractos de cáscara de aguacate como antioxidantes

Especie	Método empleado	Resultado	Referencia
<i>Persea americana</i> var. Hass y Fuerte	Ensayos CUPRAC, ABTS y DPPH de extractos en metanol, acetona y acetato de etilo de cáscaras, pulpa y semillas.	El extracto en acetona de las cáscaras de aguacate var. Fuerte mostró la mayor capacidad antioxidante en los 3 ensayos. CUPRAC - 456.24 mmol Trolox /g pf ABTS – 242.26 mmol Trolox /g pf DPPH – 199.61 mmol Trolox /g pf	(2)
<i>Persea americana</i> var. Hass	Ensayo ABTS en aceite prensado de pulpa + cáscaras y aceite de pulpa secadas en horno, horno de microondas y liofilizadas de aguacates maduros e inmaduros.	Mayor capacidad antioxidante en aceite de pulpa + cáscaras de aguacates inmaduros secados en microondas.	(69)
<i>Persea americana</i> var. Hass	Ensayo ORAC en extractos acuosos de cáscaras y semillas.	El extracto de cáscara mostró una mayor capacidad antioxidante que el extracto de semilla con un valor ORAC de 216.8 μ mol Trolox /g ps	(70)
<i>Persea americana</i> var. Hass	Ensayos DPPH y ABTS de extractos etanólicos de cáscara, pulpa y semillas.	El extracto de cáscara mostró la mayor capacidad antioxidante en el ensayo ABTS con un valor de 791.5 μ mol Trolox /g pf mientras que en el ensayo DPPH fue el extracto de semilla con un valor de 410.7 μ mol Trolox/g pf.	(71)
<i>Persea americana</i> var. Hass	Ensayo FRAP a muestras liofilizadas de hojas, cáscaras, pulpa y semillas.	Los niveles antioxidantes variaron según la época del año, siendo los más altos en la cáscara en noviembre, en las hojas en marzo y en las semillas en junio.	(72)
<i>Persea</i>	Ensayos ABTS, DPPH y	Los extractos de cáscara mostraron mayor	(54)

<i>americana</i> var. Hass y Fuerte	FRAP a extractos etanólicos de cáscaras y semillas.	capacidad antioxidante en los ensayos ABTS y FRAP con valores de 1004.5 $\mu\text{mol Trolox/g pf}$ y 1881.4 $\mu\text{mol Fe}^{+2}/\text{g pf}$ respectivamente, mientras que en el ensayo DPPH lo hicieron los extractos de semillas con un valor de 464.9 $\mu\text{mol Trolox/g pf}$. La variedad Fuerte presentó mayor capacidad antioxidante que la var. Hass en todos los ensayos.	
<i>Persea americana</i> var. Hass y Shepard	Ensayos DPPH, ABTS y ORAC de extractos metanólicos de cáscaras y semillas.	Los extractos de cáscara de la variedad Hass manifestaron una mayor capacidad antioxidante en los tres ensayos. DPPH – $\text{EC}_{50} = 0.358 \text{ mg ps}$ ABTS – 0.161 mmol Trolox /g ps ORAC – 0.47 mmol Trolox /g ps	(55)
<i>Persea americana</i> var. Hass	Ensayo DPPH de extractos acuosos de cáscara, pulpa y semillas.	El extracto de las semillas mostró mayor capacidad antioxidante que los extractos de la cáscara y pulpa.	(73)
<i>Persea americana</i> var. Hass, Quintal, Margarida y Fortuna	Ensayos ABTS, DPPH y FRAP de extractos etanólicos de cáscara, pulpa y semilla.	El extracto de cáscara de la variedad Quintal indicó la mayor capacidad antioxidante en los tres ensayos. ABTS – 497.53 $\mu\text{mol Trolox /g pf}$ DPPH – 482.65 $\mu\text{mol Trolox /g pf}$ FRAP – 546.49 $\mu\text{mol Fe}^{+2}/\text{g pf}$	(74)
<i>Persea americana</i> Drymifolia	Ensayo DPPH en extracto metanólico de cáscara en muestras recolectadas de distintas zonas.	El valor antioxidante más alto fue de 307.33 mmol Trolox/g pf que presento la muestra denominada Atlixco 5.	(75)
<i>Persea americana</i>	Ensayos DPPH y FRAP en extractos de hojas, cáscaras, pulpa y semillas en HCl/metanol.	El extracto de hojas mostró la mayor capacidad antioxidante según el ensayo DPPH con un valor de 48.60- 81.63% de inhibición, mientras que el extracto de cáscara reveló mayor capacidad antioxidante en el ensayo FRAP con un valor de 34.64 mg AAE/ g ps.	(76)

<i>Persea americana</i>	Ensayo DPPH en extractos etanólicos de cáscara a diferentes temperaturas y concentraciones de disolvente.	La actividad antioxidante máxima se encontró bajo los siguientes parámetros: extracción bajo agitación por 20 minutos con 48% de etanol a 70° C y una relación disolvente/sólido (v/p) 20	(77)
<i>Persea americana</i> var. Hass	Ensayo DPPH a extractos de cáscara, pulpa y semilla en acetona	Los extractos de semilla revelaron una mayor capacidad antioxidante, seguidos de los extractos de cáscara.	(78)
<i>Persea americana</i> var. Hass, Slimcado, Simmonds, Loretta, Choquette, Booth 7, Booth 8 y Tonnage	Ensayos DPPH y ORAC a extractos de cáscara, pulpa y semilla en acetona/agua/ácido acético.	Los extractos de cáscara de la variedad Hass revelaron una mayor capacidad antioxidante en el ensayo ORAC con un valor de 631.4 μ mol Trolox /g pf, mientras que en el ensayo DPPH los extractos de las semillas de la variedad Simmonds mostraron mayor capacidad antioxidante con un valor de 240. 2 μ mol Trolox/ g pf.	(53)
<i>Persea americana</i> var. Bacon	Ensayos DPPH, ABTS y TBA a extractos de cáscara, pulpa y semilla en metanol y n-hexano.	Los extractos metanólicos de la semilla mostraron mejor capacidad antioxidante en los 3 ensayos. DPPH – IC ₅₀ = 4.17 mg/ml ABTS - IC ₅₀ = 0.03 mg/ml TBA - IC ₅₀ = 7.71 μ g/ml	(79)

Existen estudios que evidencian que las xantofilas (grupo al que pertenecen la luteína y la zeaxantina) presentes en el aguacate y que le confieren el color a la pulpa, pueden tener efectos antioxidantes y protectores del ADN, favoreciendo así un envejecimiento saludable (49,80,81). La aplicación tópica y el consumo de frutas y verduras como el aguacate se recomienda para mantener una piel sana, debido al contenido de carotenoides y fenoles (82). Se ha demostrado que los compuestos del aguacate mejoran la cicatrización de la piel y disminuyen el daño causado por la exposición a los rayos UV (80).

Recientemente se demostró la alta capacidad inhibitoria de las metaloproteinasas de matriz evidenciada con el extracto de cáscara de aguacate a concentraciones relativamente bajas (150 µg DE/mL) (3). Estas metaloproteinasas son proteasas extracelulares que escinden específicamente una amplia variedad de sustratos, incluidos la membrana basal y los componentes de la matriz extracelular, incluyendo varios tipos de colágenos, elastina, fibronectina, gelatina, proteoglicanos, etc. La actividad de las metaloproteinasas está relacionada con el envejecimiento prematuro de la piel (83). El extracto de cáscara de aguacate fue particularmente eficaz para inhibir la matrilisina (MMP7), gelatinasa A (MMP2) y colagenasa 1 (MMP-1). Se ha demostrado que la transcripción de genes (MMP-1) y la expresión de la MMP-1 están incrementadas en el envejecimiento (84).

Estudios han demostrado que el ácido ascórbico presente en el aguacate protege contra enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo y con la degeneración por la edad como enfermedades coronarias, cataratas y algunas formas de cáncer, además es importante en la síntesis de colágeno y carnitina, en la comunicación neuronal, la memoria y la actividad locomotora (82). El aceite de aguacate se usa para reducir las manchas provocadas por la edad, como humectante y para estimular la curación de cicatrices (85).

Métodos de obtención de extractos con propiedades bioactivas

Existen múltiples métodos de extracción que permiten la obtención de extractos con moléculas bioactivas como los polifenoles dentro de los que destaca la maceración, la extracción al agua caliente, la extracción con fluidos supercríticos y la extracción con ultrasonido.

La maceración es una técnica de extracción convencional que consiste en triturar una muestra en partículas pequeñas para aumentar la superficie de contacto y obtener una buena mezcla con el disolvente, este proceso se lleva a cabo en un recipiente cerrado y va acompañado de agitación que contribuye a la extracción aumentando la difusión (86). El disolvente utilizado durante la maceración se denomina menstruo, al final este es separado del residuo sólido que se prensa para recuperar la mayor cantidad posible de solución y se filtra junto con todo el líquido obtenido para separar de las impurezas (87). Una vez que este residuo es extraído, se deshecha sin utilización. La maceración es un método de baja eficiencia, donde ésta depende de los parámetros de operación, la naturaleza de la muestra,

la química de los compuestos bioactivos de interés, el disolvente elegido y la destreza del operador (88).

La extracción con agua hirviendo es otra de las técnicas de extracción convencional, es muy utilizada ya que el agua es el solvente más económico para la extracción (89). La extracción con agua hirviendo es la más utilizada para la obtención de glucosinolatos, así como otros compuestos polares como fenoles (90). El agua puede ser utilizada en la extracción acelerada con disolventes (ASE) que es una técnica de extracción sólido líquido a altas temperaturas (50-200°C) y presiones (10-15 MPa), este método presenta ventajas en contraste con los métodos tradicionales como el uso de menor cantidad de solvente y disminución en los tiempos de extracción, además es una tecnología “verde” que permite el agua o sus mezclas con disolventes GRAS (Generally recognized as safe) (48).

La extracción con fluidos supercríticos (SFE) pretende maximizar la recuperación del compuesto extraído, así como mejorar su calidad y minimizar el costo de energía ya que es más rápido y selectivo que los métodos de extracción convencionales (91). Este método emplea un fluido a temperatura y presión por encima de sus valores críticos, ya que al sobrepasar el punto crítico modifica su capacidad como disolvente y mejora su selectividad en el proceso de extracción. El fluido más utilizado en la SFE es el dióxido de carbono (scCO_2) debido a que sus valores de temperatura y presión críticos se alcanzan fácilmente, su baja temperatura crítica permite el manejo a temperaturas de extracción suaves que favorecen la recuperación de compuestos termolábiles, además es considerado GRAS en la industria, es barato y permite su reutilización, adicionalmente es un gas a temperatura ambiente lo que permite obtener un extracto libre de disolvente (92).

El CO_2 es una molécula no polar por lo que puede extraer compuestos no polares o de baja polaridad, para modificar su polaridad y mejorar la solubilidad y extracción de otras sustancias como los tocoferoles pueden usarse co-solventes o modificadores (solventes de carácter polar) como el etanol (EtOH) (93). Otros co-solventes que pueden usarse son los aceites vegetales, útiles para la extracción de carotenoides (94). En un estudio se realizó una extracción de aceite de aguacate en dos pasos (scCO_2 seguido de $\text{scCO}_2 + \text{EtOH}$ como co-solvente), produjo mejores valores de recuperación de aceite y una mayor cantidad de tocoferoles en el aceite (95).

La extracción asistida por ultrasonido (EAU) se usa para mejorar el rendimiento y la selectividad de los compuestos. El ultrasonido utiliza una frecuencia de 20-100 MHz, que comprime y expande el material expuesto (96). La expansión y compresión dan lugar a la formación de pequeñas burbujas (burbujas de cavitación) que crecen y encogen según la expansión y compresión de la onda ultrasónica y que al llegar a su punto crítico explotan, cuando las explosiones suceden en la superficie de un sólido provocan erosión que ocasiona descamación celular e incremento en la permeabilidad de las paredes vegetales facilitando así la extracción de los compuestos (97). En un experimento se observó un aumento del 70.67 % en el rendimiento de sinigrina de semilla de mostaza india con la aplicación de UAE a 20 kHz y 400 W en comparación con la extracción convencional por solventes (H_2O y EtOH) (90).

Descripción de la carbonización hidrotérmica (HTC)

La HTC es un proceso de termoconversión en donde la biomasa es colocada en agua y sometida a temperatura y presión durante un intervalo de tiempo. Como resultado de este proceso se obtiene una fracción sólida (biocarbón), una fracción líquida (bioaceite) y una fracción gaseosa (biogás), la proporción de estas fracciones, así como su composición dependerá de las características de la biomasa utilizada, así como de las condiciones de reacción (**Figura 11**) (98).

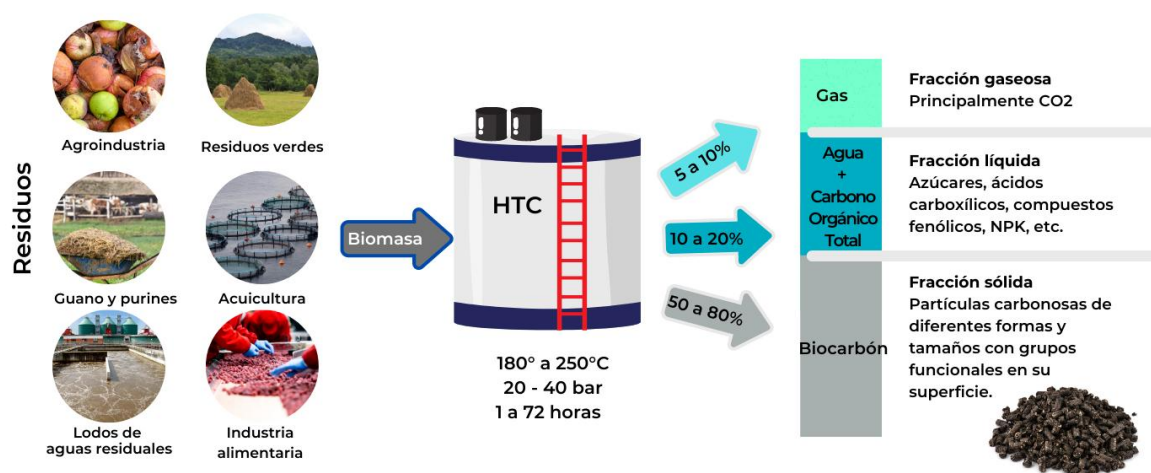


Figura 11. Productos obtenidos durante el proceso de carbonización hidrotérmica. Tomado de (99).

La HTC comprende etapas de hidrólisis de la biomasa formando moléculas más pequeñas a través de procesos de deshidratación, condensación o polimerización. Se emplean temperaturas entre 180 hasta 250-300 °C y tiempos de reacción de varias horas, mientras que no hay necesidad de introducir presiones adicionales, así que las presiones son autógenas (100). Otras reacciones que se dan a lo largo del proceso son la hidrólisis, deshidratación, descarboxilación, condensación, polimerización y aromatización. Estas reacciones pueden ser consecutivas pero muchas veces se producen en paralelo (**Figura 12**) (100).

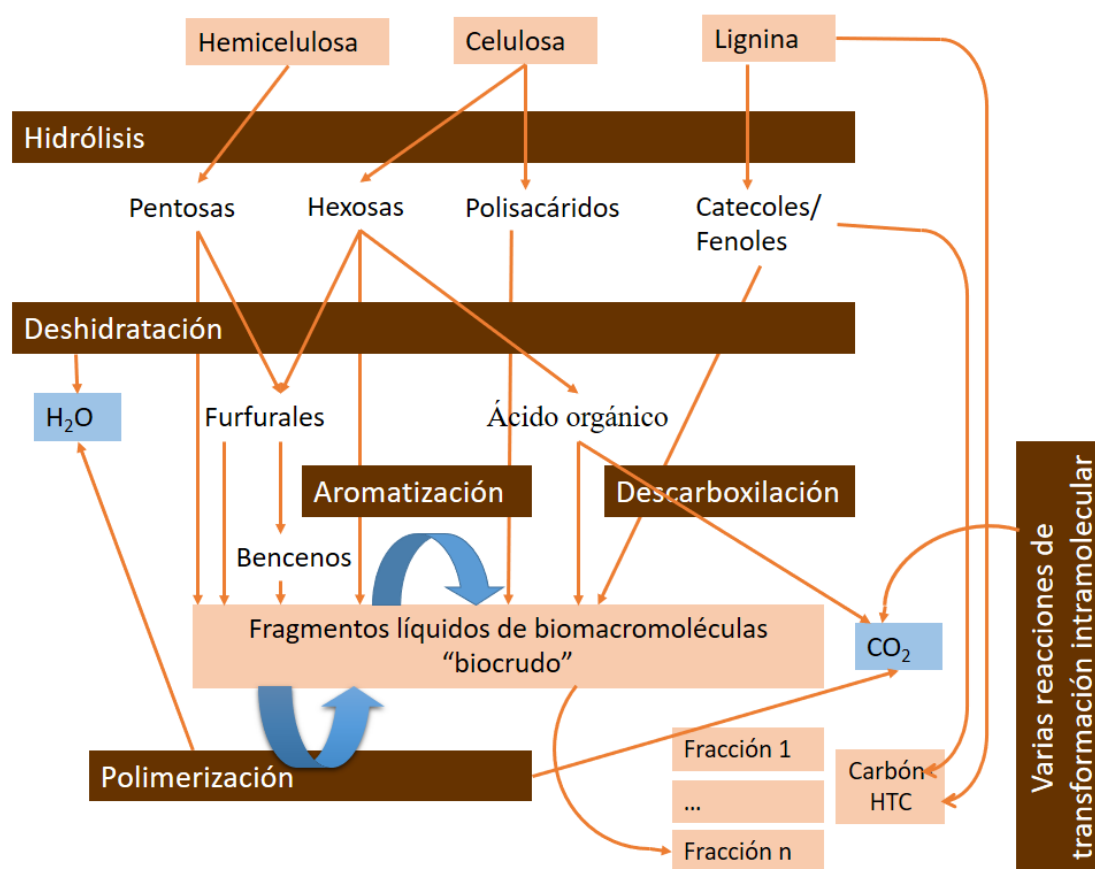


Figura 12. Reacciones relevantes que ocurren durante la carbonización hidrotérmica. Modificado de (101).

Cuando el agua alcanza una temperatura de 100 °C durante la HTC, todos los componentes solubles de la biomasa quedan disueltos en ella. A los 150 °C comienza a llevarse a cabo la hidrólisis de la hemicelulosa y celulosa a cadenas monoméricas, mientras que a los 200 °C

las moléculas del agua comienzan a ionizarse formando iones hidronio los cuales aceleran aún más la hidrólisis de la celulosa formando oligómeros de celulosa y glucosa. Finalmente a los 300 °C comienza el proceso de formación del bioaceite (102).

En la HTC la glucosa puede isomerizarse a fructosa; mientras que ambos carbohidratos suelen descomponerse en ácido etanoico, 2-hidroxipropanoico, propenoico, 4-oxopentanoico y metanoico; durante este proceso de deshidratación y fragmentación se lleva a cabo la formación de 5-hidroximetilfurfural (5-HMF) y polifuranos los cuales a través de una deshidratación inter- e intramolecular así como reacciones de condensación aldólica y tautomerismos ceto-enol van a formar partículas con un núcleo hidrofóbico y una hoja hidrofílica que en conjunto formaran el biocarbón. Por otra parte, los principales compuestos fenólicos obtenidos a partir de la degradación de lignina por el procesamiento hidrotérmico son fenoles con grupos metilo y etilo (102).

Durante la HTC el agua juega un factor crítico, siendo el solvente y el reactivo que se utiliza. En consecuencia, sus características fisicoquímicas cambiarán en la medida que varíen la temperatura y la presión (punto crítico del agua = 374 °C y 22.1 MPa) de manera que podemos tener un proceso hidrotérmico con condiciones sub-críticas o súper-críticas. Conforme aumente la temperatura del agua, los componentes de la biomasa serán más solubles en ella (98). Aunque no se comprenden todas las reacciones químicas de formación de los carbonos por HTC se considera que al tener una energía de activación más baja que la mayoría de las otras reacciones, la hidrólisis es la reacción que rige la HTC. Igualmente, la polimerización por condensación tiene un impacto en la formación de los carbonos durante la cual participan algunos de los fragmentos altamente reactivos de las reacciones anteriores. En esta reacción se combinan dos moléculas, lo que resulta en la formación simultánea de una molécula más grande y la liberación de una molécula pequeña (generalmente agua). Además, las reacciones de aromatización darán como resultado estructuras de polímeros aromáticos que son estables en condiciones hidrotermales y se consideran los componentes básicos del hidrocarbón obtenido por HTC (103).

En un estudio realizado utilizando esta técnica, se emplearon dos muestras representativas de biomasa: el tallo de maíz, considerado un desecho agrícola y el desecho forestal de *Tamarix ramosissima*. El análisis por GC-MS de la fracción líquida describió la presencia

básicamente de azúcares derivados de la hidrólisis de la celulosa y hemicelulosa, así como de fenoles provenientes de la degradación de la lignina. Se ha señalado que, durante la carbonización hidrotérmica de la biomasa, se produce la despolimerización y repolimerización de la lignina debido al ambiente ácido. Del mismo modo ocurre su desmetoxilación y la elevación de su grado de condensación. Lo anterior contribuye a la formación de compuestos fenólicos. Claramente el tipo de compuesto generado depende de las características estructurales de la biomasa. Por ejemplo, en el caso del tallo de maíz sometido a la HTC se encontró que los principales monómeros fenólicos presentes en la fracción acuosa (aceite ligero) consistían principalmente en ácido 2,6-dimetoxilo, butil-2-metilpropilester-1,2-bencenodicarboxílico y 4-etoxi-2,5-dimetoxibenzaldehído. En contraste, los principales tipos de fenoles en el desecho forestal de *T. ramosissima* fueron 2,6-dimetoxifenol, 3-metoxi-1,2-bencenodiol, p-xileno y fenol (104).

Utilización de bioaceites obtenidos por carbonización hidrotérmica para aplicaciones medicinales

No existen en la literatura numerosos estudios que hayan utilizado fracciones por obtenidos por HTC para aplicaciones medicinales. En un estudio más reciente utilizando residuos de almazara se determinó que el aceite ligero procedente de la HTC era rico en compuestos fenólicos antioxidantes, fundamentalmente en hidroxitirosol y tirosol los que podían ser obtenidos en concentraciones elevadas mediante la carbonización hidrotérmica (105).

Teniendo en cuenta las investigaciones previas consideramos que es muy probable que se obtenga una alta concentración de compuestos fenólicos en los bio-aceites provenientes de la HTC de la biomasa residual extraída de cáscaras de aguacate con elevada capacidad antioxidante y propiedades anti-envejecimiento comparables a las del extracto obtenido por extracción convencional, lo que permitiría aprovechar de manera integral la cáscara, ya que ambos procesos (extracción convencional y la HTC) ocurren en forma secuencial (105).

JUSTIFICACIÓN

Teniendo en cuenta que los extractos polares ni los bioaceites obtenidos por carbonización hidrotérmica procedentes de la cáscara de aguacate (*Persea americana* Mill. cultivar Hass) han sido estudiados como antioxidantes sobre especies reactivas de oxígeno y nitrógeno relevantes en el envejecimiento cutáneo, el presente trabajo de investigación pretende caracterizar y evaluar comparativamente los efectos del extracto etanólico y de bioaceites obtenidos por carbonización hidrotérmica procedentes de la cáscara de aguacate como antioxidantes con vistas a proponer futuras aplicaciones de este subproducto de la industria alimenticia para el desarrollo de nuevos productos cosmecéuticos antioxidantes de alto valor agregado. Dado que la carbonización hidrotérmica será realizada después de la extracción convencional utilizando la biomasa extraída, se considera que este método permitirá la utilización integral de la cáscara de aguacate permitiendo maximizar la obtención de moléculas bioactivas a partir de este subproducto alimenticio.

HIPÓTESIS

El extracto etanólico y los bioaceites obtenidos por carbonización hidrotérmica procedentes de la cáscara de aguacate (*Persea americana* Mill. cultivar ‘Hass’) presentan efectos inhibitorios sobre la generación de especies reactivas de oxígeno y nitrógeno implicadas en el envejecimiento celular cutáneo.

OBJETIVOS

Objetivo general

Caracterizar químicamente y determinar el efecto antioxidante del extracto etanólico y de los bioaceites obtenidos por carbonización hidrotérmica a partir de la cáscara de aguacate (*Persea americana* Mill. cultivar 'Hass') sobre especies reactivas de oxígeno y nitrógeno involucradas en el envejecimiento cutáneo.

Objetivos específicos

- ✓ Determinar la composición de fenoles totales, ácidos hidroxicinámicos, proantocianidinas y flavonoides del extracto etanólico y de los bioaceites obtenidos por HTC.
- ✓ Determinar la presencia de grupos funcionales en el extracto y fracciones obtenidas por HTC
- ✓ Determinar la actividad antioxidante del extracto etanólico y de los bioaceites obtenidos por HTC sobre la generación de especies reactivas de oxígeno involucradas en el envejecimiento cutáneo (H_2O_2 , O_2^- , $\text{OH}^\bullet$, $\text{NO}^\bullet$ y $\text{ROO}^\bullet$).

MATERIALES Y MÉTODOS

La **Figura 13** muestra las etapas esenciales seguidas en la estrategia experimental, desde la obtención de la materia prima, extracción, realización de la carbonización hidrotérmica, así como la caracterización química y el estudio de las propiedades antioxidantes.

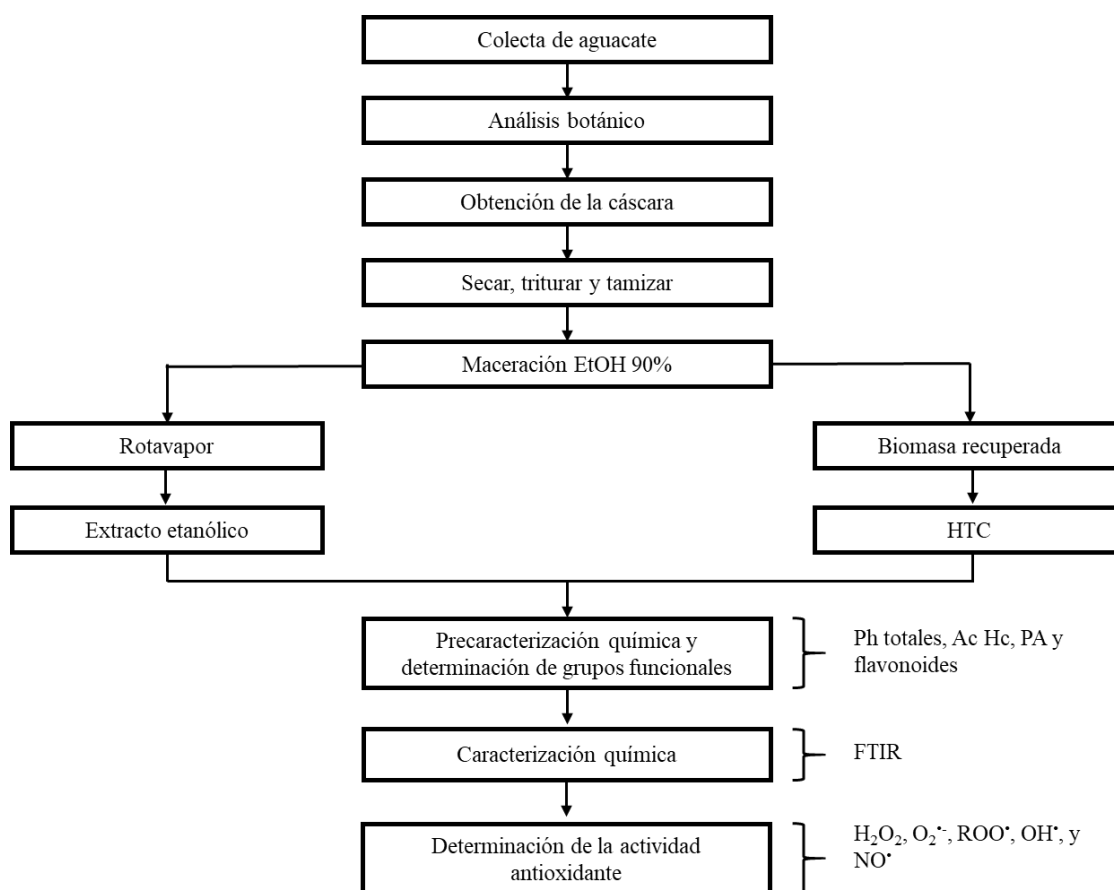


Figura 13. Estrategia experimental.

Colecta de aguacates

Para cumplir con los objetivos del presente proyecto se realizó una colecta de aguacate (*Persea americana* Mill. var. 'Hass') en una huerta localizada en San Andrés Coru, municipio de Uruapan, Michoacán (Latitud: 19.419756°, Longitud: 101.976952°). Todas las muestras fueron colectadas de un solo árbol y conservadas hasta su maduración.

Identificación botánica

Para la identificación botánica de los aguacates se tomó una muestra de frutos, hojas, flores y ramas, además se midió la altura y el diámetro del árbol que sirvió para la realización de los experimentos. Estas muestras fueron analizadas desde el punto de vista botánico por el Dr. Emmanuel Pérez-Calix del Instituto de Ecología de Pátzcuaro, Michoacán. El registro de la muestra se realizó en la base de datos del herbario del Instituto de Ecología A. C. Centro Regional del Bajío (IEB-INECOL): M. Avalos V. 1 (IEB 266506).

Preparación de la cáscara

El fruto de aguacate se dejó a temperatura ambiente hasta su maduración. Posteriormente se les retiró la pulpa y la semilla, las cáscaras se recuperaron y se lavaron con agua a 25 °C para retirar la mayor parte de la pulpa restante, después se cortaron en fragmentos de menor tamaño, se colocaron en una estufa de secado durante 48 horas a 50 °C, se trituraron y se tamizaron hasta un tamaño de partícula $\leq 850 \mu\text{m}$.

Determinación del porcentaje en humedad

La determinación de humedad se realizó según la Norma Mexicana 083 (NMX-F-083-1986. Determinación de humedad en productos alimenticios). Se tomó la muestra por triplicado y se llevó a estufa a 50° C hasta obtener un peso constante con una variación máxima de 0.1% entre cada medición. Los valores fueron obtenidos a partir de la siguiente fórmula.

$$\% \text{ en Humedad} = \frac{(P-P_1)}{P_2} \times 100$$

En donde:

P = Peso del recipiente con la muestra húmeda, en gramos.

P1 = Peso del recipiente con la muestra seca.

P2 = Peso de la muestra en gramos.

Obtención del extracto etanólico de *Persea americana* (EEPA)

Para extraer los compuestos fenólicos, la cáscara molida y seca fue primeramente sometida a maceración. En la primera fase se agregaron 15 gramos de cáscara en etanol al 90% [1:10], con agitación durante 48 horas y protegido de la luz, posteriormente se decantó y

almacenó el extracto etanólico a 4 °C hasta su filtración. Para la segunda fase al precipitado se le añadió nuevamente etanol al 90% [1:10] y se mantuvo en las mismas condiciones que la primera fase. El extracto etanólico total se filtró al vacío con papel filtro Watman® #96 y se almacenó a 4 °C protegido de la luz. El resto de cáscara, llamada biomasa residual extraída se sometió a secado en estufa a 50 °C durante 48 horas y se almacenó a temperatura ambiente para su uso durante la HTC.

Para separar el volumen de etanol, el extracto etanólico fue sometido a una extracción líquido-sólido en un rotavapor (Science MED RE100-Pro, XZ172AD0000059). Primeramente, fue evaporado el etanol a una temperatura de 45 °C, a una velocidad de 20-55 rpm y a una presión de 20 mmHg y después el agua a una temperatura de 55 °C y conservando la velocidad y la presión, se recuperó el producto sólido y se llevó a conservación en frasco ámbar a 4 °C. Se consideró el peso inicial y final obtenido, para de esta manera determinar el porcentaje de rendimiento del extracto de la siguiente manera:

$$\text{Porcentaje de Rendimiento} = \frac{\text{Rendimiento real}}{\text{Rendimiento teórico}} \times 100$$

Obtención de fracciones por carbonización hidrotérmica

La carbonización hidrotermal se realizó en el Centro Interdisciplinario de Investigaciones y Estudios sobre Medio Ambiente y Desarrollo (CIIEMAD), perteneciente al Instituto Politécnico Nacional (IPN). Para ello, se empleó un reactor (Marca: Parr 4562, No. de serie: 26449). En el interior del vaso del reactor, se colocaron 10 g de la biomasa residual extraída y 100 mL de agua destilada Millipore. Una vez sellado el reactor, se le inyectó nitrógeno para generar una atmosfera libre de oxígeno y una presión inicial de 75 psi. Se conectó un controlador de temperatura (Marca: Parr 4842, No. de serie: 989) al reactor y una vez que el reactor alcanzó la temperatura indicada (tiempo de permanencia) se encendió el sistema de agitación para comenzar la reacción, el tiempo de permanencia en todas las reacciones fue de 15 min. La biomasa residual extraída fue sometida a tres temperaturas, 200 °C, 250 °C y 300 °C, considerándose por lo menos tres réplicas por cada condición. La velocidad media de calentamiento para llegar al tiempo de permanencia y a la presión final autógena del reactor para cada condición se indican en la (Tabla 4).

Tabla 4. Condiciones utilizadas durante la HTC.

Temperatura	Velocidad media de calentamiento	Presión final autógena
200 ± 5 °C	9.41 ± 0.66 °C/min	360 ± 17.32 psi
250 ± 5 °C	6.47 ± 0.10 °C/min	720 ± 20.00 psi
300 ± 5 °C	5.37 ± 0.53 °C/min	1400 ± 28.28 psi

Nota: En la tabla se indica la velocidad de calentamiento y la presión para cada temperatura de reacción. Los valores expresan la media ± la desviación estándar. HTC, carbonización hidrotermal.

Después de cada reacción se recuperaron dos fracciones por filtración: una fracción sólida (biocarbón) y una fracción líquida (bioaceite ligero, BAL). En aras de extraer y caracterizar las moléculas presentes en el biocarbón, así como estudiar su bioactividad, este se resuspendió en acetona [1:25 p/v], se maceró durante 24 horas, se filtró, se destiló y se recuperó el volumen de acetona resultante, lo que generó la formación de una nueva fracción conocida como bioaceite pesado (BAP). Se consideró el peso inicial de la biomasa y el peso del biocarbón obtenido para de esta manera calcular su porcentaje de rendimiento.

Caracterización química

Para determinar la composición química general de EEPA y de los bioaceites ligero y pesado obtenidos por HTC se determinó el contenido de fenoles totales, ácidos hidroxycinámicos, proantocianidinas y flavonoides totales presentes en el extracto etanólico por medio de espectrofotometría. Fueron consideradas 4 réplicas por muestra y los resultados se compararon con los obtenidos para el extracto comercial Oligopin[®].

Contenido de fenoles totales

Para la cuantificación de fenoles totales se colocaron en cada tubo 250 µl de reactivo Folin-Ciocalteu en agua destilada [1:1], 250 µl de carbonato de sodio (Na₂CO₃) [7.5%] en agua destilada y 250 µl de la muestra (extracto etanólico u Oligopin[®]) [100 y 500 ppm] en metanol y agua destilada [1:1]. Las muestras se homogenizaron y se incubaron en un baño de agua a 40 °C durante 30 minutos. Después, se colocaron en baño de hielo y se les añadió 2 ml de agua destilada. Por último, se midió la absorbancia de cada una de las muestras en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 750 nm. Los resultados son expresados en equivalentes de ácido gálico por gramo de extracto (mg GAE/g de extracto) (106).

Contenido de proantocianidinas

Para cuantificar proantocianidinas totales se colocaron en un tubo 650 μ l de la muestra [10 y 20 ppm] en metano/agua destilada [1:1], se agregaron 130 μ l de solución de hierro (sulfato de amonio férrico dodecahidratado [2%] en ácido clorhídrico [2 M]), se homogenizó y se le agregaron 3900 μ l de butanol ácido (butanol y ácido clorhídrico [95:5]). De nuevo se homogenizó, se cubrió con papel aluminio y se incubó a 95 °C durante 40 min. Posteriormente la mezcla se colocó en baño de hielo durante 10 min y se dejó reposar durante 5 minutos a temperatura ambiente. Para finalizar se midió la absorbancia de cada muestra en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 550 nm. Los resultados son expresados como equivalentes de cloruro de cianidina por gramo de extracto (mg CChE/g de extracto) (107).

Contenido de ácidos fenólicos del tipo hidroxicinámicos

Para cuantificar los ácidos hidroxicinámicos totales se colocaron en un tubo 500 μ l de la muestra [100 y 500 ppm], 1.0 ml de ácido clorhídrico [0.5 M], 1 ml del reactivo de Arnow (nitrito de sodio [10%] y molibdato de sodio [10%] en agua destilada), 1 ml de hidróxido de sodio [2.125 M] y 1.5 ml de agua destilada. Se homogenizó la muestra y se midió su absorbancia en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 525 nm. Los resultados son expresados como equivalentes de ácido clorogénico por gramo de extracto (mg ChAE/g de extracto) (108).

Contenido de flavonoides totales

Para cuantificar flavonoides totales se colocaron en un tubo 2 ml de la muestra [10 y 30 ppm] en metanol / agua destilada [1:1], 2 ml de solución cloruro de aluminio (AlCl_3) [2%] en metanol / agua destilada [1:1], se homogenizó y se llevó a incubación a 20 °C durante 1 hora. Finalmente se homogenizó de nueva cuenta y se leyó su absorbancia en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 415 nm. Los resultados son expresados como equivalentes de quercetina por gramo de extracto (mg QE/g de extracto) (109).

Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier

La determinación de los grupos funcionales presentes en el EEPA y de los bioaceites obtenidos por HTC se realizó mediante espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR). La determinación se realizó en un espectrofotómetro de FTIR (Marca:

PerkinElmer® 2016) considerando un rango de longitud de onda de 4000 a 650 cm⁻¹. El análisis y la presentación grafica de los resultados se realizó en el Software *OriginPro* (2021).

Análisis de la capacidad antioxidante del extracto etanólico y de los bioaceites obtenidos por carbonización hidrotérmica

Para evaluar la actividad antioxidante del EEPA, así como de los bioaceites obtenidos por HTC, se determinó su concentración necesaria para inhibir en un 50% (EC₅₀) la formación de especies oxidantes de relevancia biológica durante el proceso de envejecimiento cutáneo: peróxido de hidrógeno (H₂O₂), anión superóxido (O₂^{•-}), radical peroxilo (ROO[•]), radical hidroxilo ([•]OH) y radical óxido nítrico (NO[•]) por medio de espectrofotometría. Los resultados fueron comparados con el extracto comercial Oligopin® y la curcumina, reconocidos por su capacidad antioxidante. Cada una de las pruebas se realizó por triplicado.

El porcentaje de inhibición para el peróxido de hidrógeno, anión superóxido, radical hidroxilo y óxido nítrico se calculó utilizando la siguiente ecuación:

$$\% \text{Scavenging} = 100 \left[\frac{A_0 - (A_1 - A_2)}{A_0} \right]$$

En donde: A_0 es la absorbancia de la mezcla sin el extracto, A_1 es la absorbancia de la mezcla con el extracto y A_2 es la absorbancia del extracto (110). Mientras que el porcentaje de inhibición para el radical peroxilo se calculó utilizando la siguiente ecuación:

$$\% \text{Scavenging} = 100 \left[1 - \frac{A_{e0} - A_{ef}}{A_{c0} - A_{cf}} \right]$$

En dónde: A_{e0} es la absorbancia de la mezcla con el extracto sin 2,2'-Azobis(2-methylpropionamidine) dihydrochloride (AAPH), A_{ef} es la absorbancia de la mezcla con el extracto, A_{c0} es la absorbancia del control sin extracto y sin AAPH y A_{cf} es la absorbancia del control sin el extracto (110).

Capacidad para captar al anión superóxido

La capacidad para capturar el anión superóxido se determinó utilizando 1.0 mL de nitroblue tetrazolium [100 μ M], 1.0 mL de nicotinamida adenina dinucleótido [468 μ M] y 1.0 mL de la muestra a diferentes concentraciones. La reacción se inició agregando 150 μ L de metosulfato de fenazina [60 μ M], se incubó 30 min a 30 °C y se midió su absorbancia (A_{560} nm) (111).

Capacidad para captar al radical hidroxilo

Para determinar la capacidad para capturar el radical hidroxilo se agregó 1.0 mL de la muestra a diferentes concentraciones, 300 μ L de sulfato ferroso heptahidratado [8 mM] y 250 μ L de H₂O₂ [20 mM]. La reacción se inició agregando 1.0 mL de ácido salicílico [3 mM] y se incubó 30 min a 37 °C. Posteriormente, se agregaron 450 μ L de agua destilada, se centrifugó 10 min a 3500 rpm, se recuperó el sobrenadante y se midió su absorbancia (A_{510} nm) (112).

Capacidad para captar al peróxido de hidrógeno

Para determinar la capacidad para capturar el peróxido de hidrógeno se agregaron 3.4 mL de la muestra a diferentes concentraciones y 600 μ L de H₂O₂ [40 mM], se incubó a temperatura ambiente durante 3 min y después se midió la absorbancia de las muestras (A_{230} nm) (113).

Capacidad para captar al radical peroxilo

La capacidad para capturar el radical peroxilo se evaluó agregando 3.0 mL de pyrogallol red [30 μ M], 50 μ L de AAPA [600 mM] y 300 μ L de la muestra a diferentes concentraciones. Después de incubar 2 horas, se determinó la oxidación del pyrogallol red (A_{540} nm) (113).

Capacidad para captar al óxido nítrico

La capacidad para capturar el radical óxido nítrico fue determinada agregando 500 μ L de nitroprusiato de sodio [10 mM], 500 μ L de la muestra a diferentes concentraciones e incubando a 37 °C por 2.5 horas con iluminación normal. Ulteriormente, las muestras se mantuvieron 20 min a temperatura ambiente protegidas de la luz, se les agregó 1.0 mL del

reactivo de Griess, se incubaron 40 min a temperatura ambiente protegidas de la luz y se determinó su absorbancia (A_{548} nm) (114).

Análisis estadístico

El análisis de los datos obtenidos en la caracterización química y en la actividad antioxidante se realizó mediante un análisis de varianza (ANOVA one-way) seguido de *Tukey's test and Dunnett's test* para la comparación de muestras.

Para determinar el nivel de significancia entre el EEPA y la Curcumina frente al radical óxido nítrico; se determinó la normalidad de los datos con la prueba de *Shapiro-Wilk*, se determinó la igualdad de varianza y se utilizó la prueba *Student's t-test*. Se determinó el coeficiente de correlación de Spearman para determinar la relación entre los resultados obtenidos de la caracterización química y los resultados obtenidos de la actividad antioxidante. Los resultados son expresados como la media $\pm$ la desviación estándar. Los valores de $p \leq 0.05$ son considerados estadísticamente significativos. El análisis estadístico y la representación gráfica de los resultados fueron realizados en el Software *GraphPad Prism 7.00* (2016).

RESULTADOS

Colecta de aguacate y análisis botánico

La **Figura 14** muestra el sitio de la colecta ubicado en San Andrés Coru, Municipio de Uruapan, Michoacán.

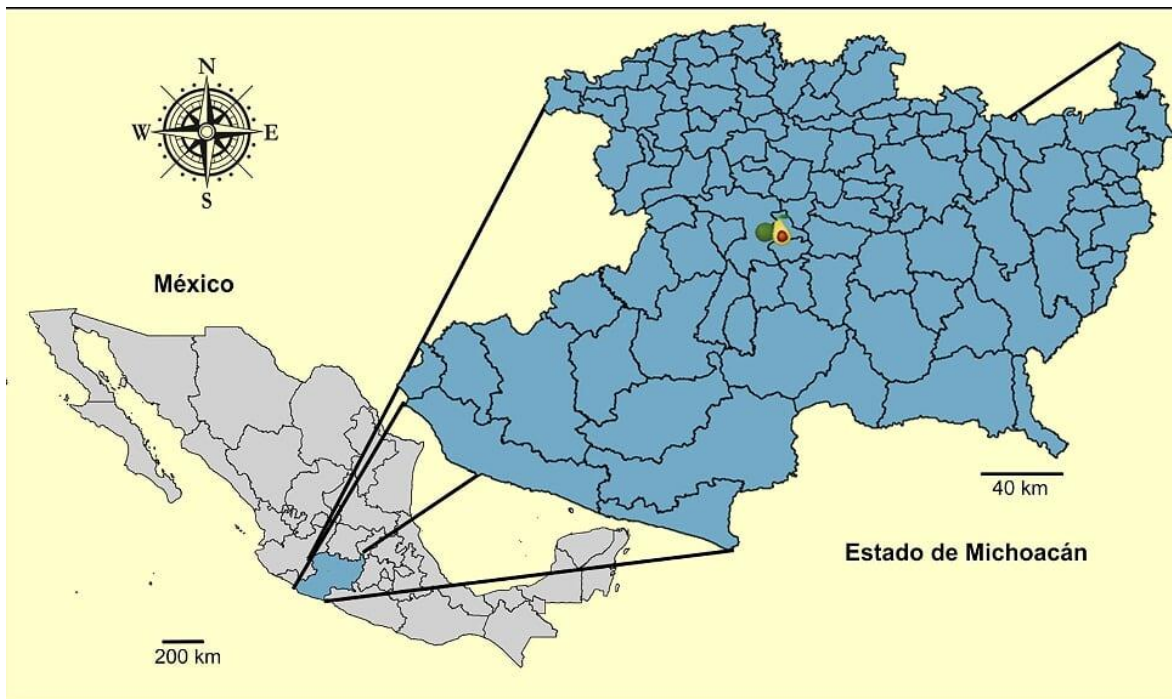


Figura 14. Localización geográfica de la colecta de aguacate. En el mapa se muestra la ubicación de la huerta en donde se colectaron los aguacates (Latitud: 19.419756°. Longitud: 101.976952°). Imagen realizada con el Mapa Digital de México-INEGI.

En total se colectaron 235 aguacates con un peso promedio de 150.95 ± 26.73 g. El peso fresco de las cáscaras recuperadas en promedio fue de 18.63 ± 3.15 g con un porcentaje de recuperación en peso fresco de 12.34 %. Después de colocarlas en la estufa a 50 °C durante 48 horas, las cáscaras perdieron un porcentaje en humedad del $73.15 \pm 0.62\%$, registrándose un peso seco promedio de 5.07 ± 0.23 g por aguacate y un porcentaje de recuperación de 3.35 % en peso seco. El análisis botánico permitió identificar a la planta como *Persea americana* Mill. Cultivar Hass (**Tabla 5**), mientras que la (**Figura 15**)

muestra que quedó registrada en la base de datos IEB-INECOL: (M.Avalos V. 1 (IEB 266506).

Tabla 5. Análisis botánico realizado a la muestra de aguacate y su registro en la base de datos del IEB-INECOL.

Nombre	<i>Persea americana</i> Mill. cultivar Hass
Familia	Lauraceae
Localidad	San Andrés Coru, municipio de Uruapan
Estado	Michoacán
Latitud	19.419756°
Longitud	101.976952°
Altitud	1663 m
Hábitat	Huerta de aguacate
Fecha de colecta	12 de septiembre de 2020
Colector	M. Avalos Viveros
Observaciones	Árbol de 5 m con un perímetro basal de 121 cm, flor amarilla, fruto verde, tamaño del fruto 8-10 cm de diámetro. Comestible



Figura 15. Muestra colectada en el herbario IEB. Registro en la base de datos del IEB-INECOL: M. Avalos V. 1 (IEB 266506).

Porcentaje en humedad y rendimiento

El porcentaje en humedad presente en la cáscara de aguacate (*Persea americana* Mill. cultivar Hass) antes de su procesamiento fue del $7.07 \pm 0.04\%$. Después de obtener el extracto convencional la biomasa residual extraída se recuperó y se secó para realizar HTC, presentando un porcentaje en humedad del $3.23 \pm 0.37\%$.

En los experimentos se consideró el peso inicial y final utilizado de la cáscara de aguacate y la biomasa recuperada para de esta manera determinar el porcentaje de rendimiento del EEPA y del biocarbón obtenido por HTC; estos resultados se presentan en la (Tabla 6), además, también se indica el volumen obtenido de bioaceite ligero después de la HTC a diferentes condiciones de reacción.

Tabla 6. Porcentaje de rendimiento. Se indica el porcentaje de rendimiento del extracto etanólico, el biocarbón y el volumen del aceite ligero como consecuencia de la extracción convencional y la HTC de cáscaras de *Persea americana*.

Condición	Biomasa utilizada	% de rendimiento	Vol. de bioaceite ligero
EEPA	10 g	$7.78 \pm 4.02\%^*$	----
Biocarbón, HTC 200 °C, 360 psi	10 g	$68.54 \pm 0.55\%^{**}$	58.00 ± 1.00 mL
Biocarbón, HTC 250 °C, 720 psi	10 g	$55.22 \pm 0.21\%^{**}$	61.67 ± 3.22 mL
Biocarbón, HTC 300 °C, 1400 psi	10 g	$41.47 \pm 1.24\%^{**}$	74.75 ± 1.26 mL

Nota: Los datos indican el promedio $\pm$ la desviación estándar. EEPA, extracto etanólico de la cáscara de aguacate (*Persea americana* Mill. cultivar Hass) y HTC, carbonización hidrotermal. *Rendimiento calculado con relación a la cáscara seca; **Rendimiento calculado con relación a la biomasa residual extraída seca.

Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier

Extracto etanólico de la cáscara de aguacate

Los resultados obtenidos por FTIR para el EEPA se muestran en la (Figura 16) y en la (Tabla 7). De acuerdo al espectro obtenido podemos mencionar la presencia de grupos hidroxilo (-OH, número de onda $\bar{\nu} = 2470$) el cual puede corresponder a compuestos fenólicos, alcohol y/o agua así como a polímeros (-OH, $\bar{\nu} = 3414$); dobles enlaces carbono-carbono de anillos aromáticos (HC=CH, $\bar{\nu} = 3004$); enlaces carbono-hidrogeno de cadenas alifáticas correspondientes a metilo y metileno (-CH₃ y -CH₂, $\bar{\nu} = 2970$), de hidrocarburos

(C-H, $\bar{\nu}$ = 1425), de fragmentos insaturados (C-H, $\bar{\nu}$ = 786) así como vibraciones de estiramiento en enlaces carbono-hidrógeno (C-H, $\bar{\nu}$ = 2926), flexiones simétricas (C-H, $\bar{\nu}$ = 1360) y flexiones fuera del plano (C-H, $\bar{\nu}$ = 902); presencia del grupo carbonilo (C=O, $\bar{\nu}$ = 1712) de ácidos carboxílicos, cetonas y/o amidas; éteres y enlaces carbono-carbono en cíclicos (=C-O-C y C-C, $\bar{\nu}$ = 1218) así como grupos hidroxilo presentes en carbonos saturados (-C-OH, $\bar{\nu}$ = 1092).

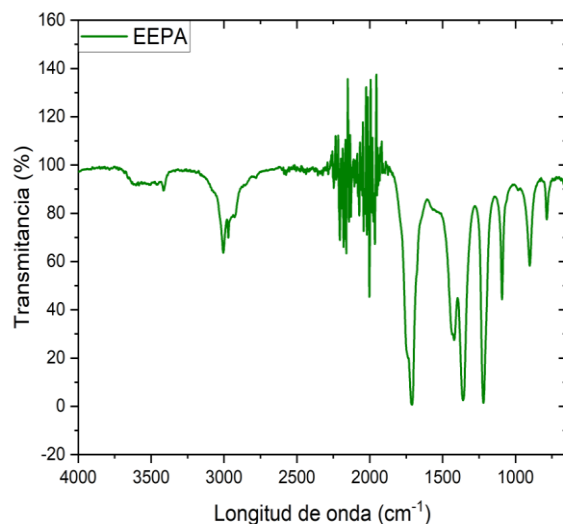


Figura 16. FTIR del EEPA. El gráfico muestra el espectro de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR) del extracto etanólico de la cáscara de aguacate *Persea americana* Mill. cultivar Hass (EEPA).

Tabla 7. FTIR del EEPA. Se muestran los grupos funcionales identificados en el espectro de infrarrojo por transformada de Fourier del extracto etanólico.

Longitud de onda (cm ⁻¹)	Grupo funcional	Vibración
3440-3500	-OH	Alcohol, fenol y/o agua
3414	-OH	ν OH asociación intermolecular (polímero)
3004	HC=CH	ν C-H (anillo aromático)
2970	-CH ₂ /-CH ₃	ν C-H alifático de grupos CH ₂ y CH ₃
2926	C-H	ν C-H de los alifáticos
1712	C=O	ν C=O de grupos de ácidos carboxílicos, cetonas y/o amidas
1425	C-H	Enlaces C-H de hidrocarburos
1360	δ_s C-H	δ_s C-H (tijereteo) del grupo CH
1218	=C-O-C aromáticos	Éter R-O-R y enlaces C-C en cíclicos
1092	C-O-H	Enlace C-O-H de alcoholes que implica un carbono saturado
902	C-H	δ C-H fuera del plano

Nota: EEPA, extracto etanólico de la cáscara de aguacate (*Persea americana* Mill. cultivar Hass); vibración s, simétrica; v, alargamiento y δ , flexión

Bioaceite ligero procedente de la carbonización hidrotérmica

Los resultados obtenidos por FTIR para el bioaceite ligero; fracción líquida obtenida a partir de la biomasa de la cáscara de aguacate (*Persea americana* Mill. cultivar Hass) sometida por HTC a diferentes condiciones de temperatura y presión se muestran en la **(Figura 17)** y en la **(Tabla 8)**. De acuerdo con los espectros obtenidos podemos mencionar la presencia de grupos hidroxilo (-OH, $\bar{\nu}$ = 3350) el cual puede corresponder a compuestos fenólicos, alcohol y/o agua; del grupo carbonilo (C=O, $\bar{\nu}$ = 1700) de ácidos carboxílicos, cetonas y/o amidas; dobles enlaces carbono-carbono (C=C, $\bar{\nu}$ = 1635); enlaces covalentes carbono-hidrógeno (C-H, $\bar{\nu}$ = 1430), vibraciones de flexión simétricas del grupo metilo (C-H, $\bar{\nu}$ = 1370); éteres aromáticos (Aril-O, $\bar{\nu}$ = 1240), vibraciones de estiramiento del oxígeno fenólico (C-O, $\bar{\nu}$ = 1207) y grupos hidroxilo presentes en carbonos saturados (C-OH, $\bar{\nu}$ = 1098).

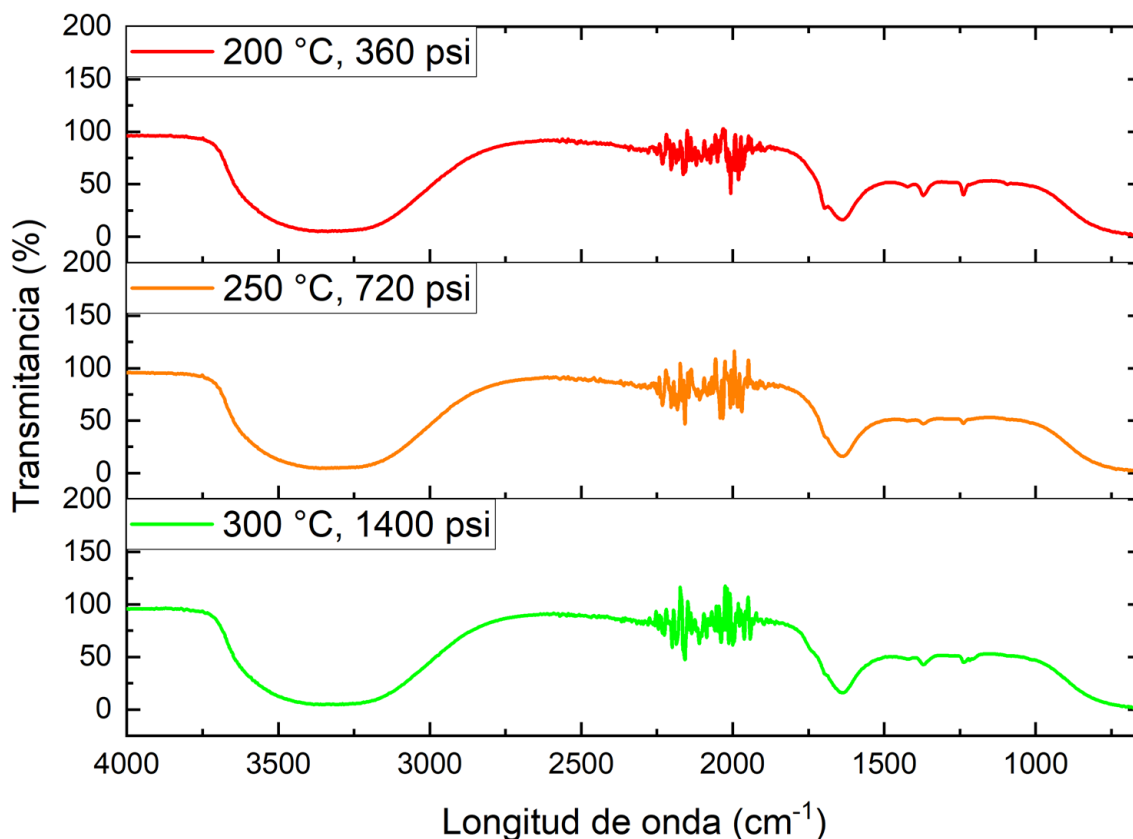


Figura 17. FTIR del bioaceite ligero. Los gráficos muestran los espectros de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR) del bioaceite ligero recuperado de la carbonización hidrotermal (HTC) de la biomasa de la cáscara de aguacate (*Persea americana* Mill. cultivar Hass) sometida a diferentes condiciones de reacción.

Tabla 8. FTIR del bioaceite ligero. Se muestran los grupos funcionales identificados en los espectros de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR).

Longitud de onda (cm ⁻¹)	Grupo funcional	Vibración
3340-3500	-OH	Alcohol, fenol y/o agua
1700	R-CHO	C=O stretching
1630-1645	C=C no conjugada	v C=C
1430	C-H	Enlaces C-H de hidrocarburos
1370-1375	δs C-H	δs C-H (tijereteo) del grupo CH ₃
1240	v C-O	Éteres aromáticos, estiramiento de aril-O
1207	v C-O	Asignado a C-O estirando vibraciones de oxígeno fenólico
1098	C-O-H	Enlace C-O-H de alcoholes que implica un carbono saturado

Nota: Vibración s, simétrica; v, alargamiento y δ, flexión.

Bioaceite pesado procedente de la carbonización hidrotérmica

Los resultados obtenidos por FTIR para el bioaceite pesado; fracción obtenida a partir de la maceración en acetona del biocarbón procedente de la biomasa de la cáscara de aguacate (*Persea americana* Mill. cultivar Hass) sometida por HTC a diferentes temperatura y presión se muestran en la (**Figura 18**) y en la (**Tabla 9**). De acuerdo con los espectros obtenidos podemos mencionar la presencia de grupos hidroxilo (-OH, $\bar{\nu}$ = 3514) el cual puede corresponder a compuestos fenólicos, alcohol y/o agua así como a polímeros (-OH, $\bar{\nu}$ = 3348); dobles enlaces carbono-carbono de anillos aromáticos (HC=CH, $\bar{\nu}$ = 3007); enlaces carbono-hidrogeno de cadenas alifáticas correspondientes a metilo y metileno (-CH₃ y -CH₂, $\bar{\nu}$ = 2965), de hidrocarburos (C-H, $\bar{\nu}$ = 1428), de fragmentos insaturados (C-H, $\bar{\nu}$ = 791), con flexiones simétricas (C-H, $\bar{\nu}$ = 1365) y flexiones fuera del plano (C-H, $\bar{\nu}$ = 907); presencia del grupo carbonilo (C=O, $\bar{\nu}$ = 1710) de ácidos carboxílicos, cetonas y/o amidas; dobles enlaces carbono-carbono no conjugados (C=C, $\bar{\nu}$ = 1649); éteres y enlaces carbono-carbono de cíclicos (=C-OH y C-C, $\bar{\nu}$ = 1223) así como grupos hidroxilo presentes en carbonos saturados (-C-OH, $\bar{\nu}$ = 1095).

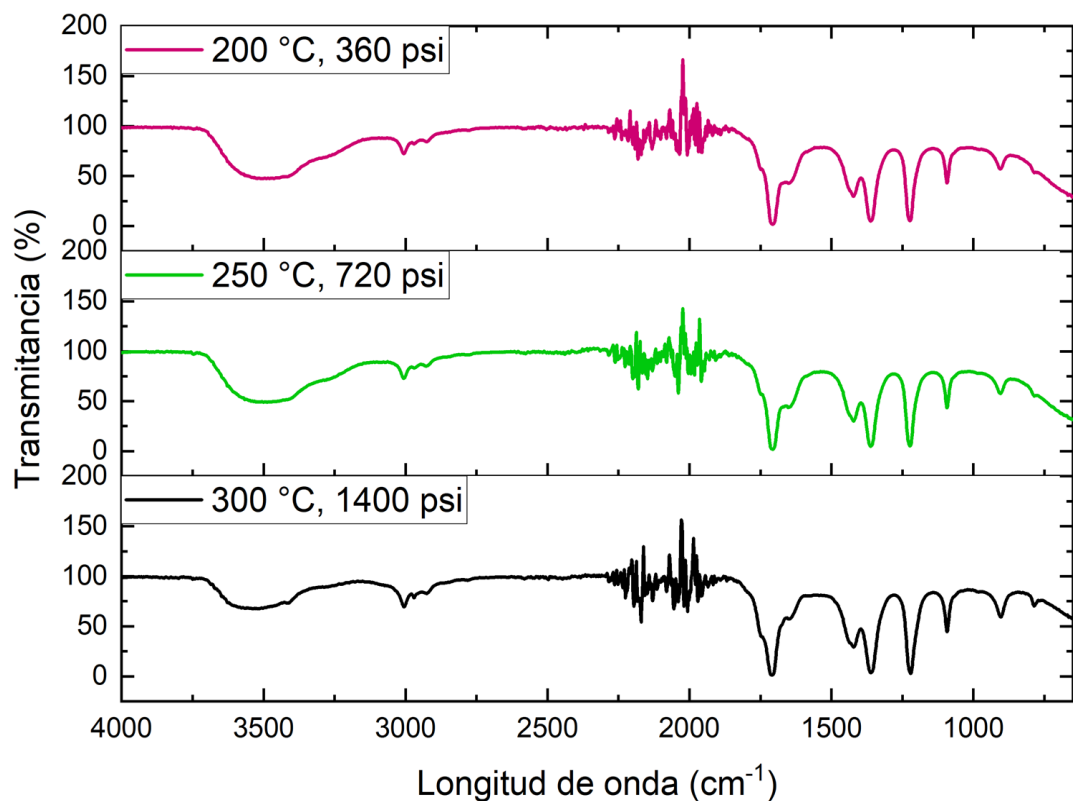


Figura 18. FTIR del bioaceite pesado. Los gráficos muestran los espectros de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR) del bioaceite pesado obtenido a partir de la fracción sólida de la carbonización hidrotermal (HTC) de la biomasa de la cáscara de aguacate (*Persea americana* Mill. cultivar Hass) sometida a diferentes condiciones de reacción.

Tabla 9. FTIR del bioaceite pesado. Se muestran los grupos funcionales identificados en los espectros de infrarrojo por transformada de Fourier.

Longitud de onda (cm ⁻¹)	Grupo funcional	Vibración
3498-3530	-OH	Alcohol, fenol y/o agua
3280-3415	-OH	v -OH asociación intermolecular (polímero)
3005-3009	HC=CH	v C-H (anillo aromático)
2960-2975	-CH ₂ /-CH ₃	v C-H alifático de grupos CH ₂ y CH ₃
1710	C=O	v C=O de grupos de ácidos carboxílicos, cetonas y/o amidas
1649	C=C no conjugada	v C=C
1425-1430	C-H	Enlaces C-H de hidrocarburos
1360-1370	δs C-H	δs C-H (tijereteo) del grupo CH
1220-1225	=C-O-C aromáticos	Éter R-O-R y enlaces C-C en cíclicos
1090-1100	C-O-H	Enlace C-O-H de alcoholes que implica un carbono saturado
907	C-H	δ C-H fuera del plano

Nota: Vibración s, simétrica; v, alargamiento y δ , flexión.

Caracterización química del extracto etanólico y de los bioaceites

En la (Figura 19) se presentan los resultados obtenidos con relación a la caracterización química del EEPA, BAL y BAP de acuerdo con su contenido de fenoles, ácidos hidroxicinámicos, proantocianidinas y flavonoides. Los resultados son comparados con el extracto comercial Oligopin[®], obtenido a partir de cortezas del pino marítimo francés *Pinus pinaster*. Se tomó como referencia este extracto ya que es reconocido por su contenido en compuestos fenólicos y ha sido utilizado con éxito como agente anti-edad (115).

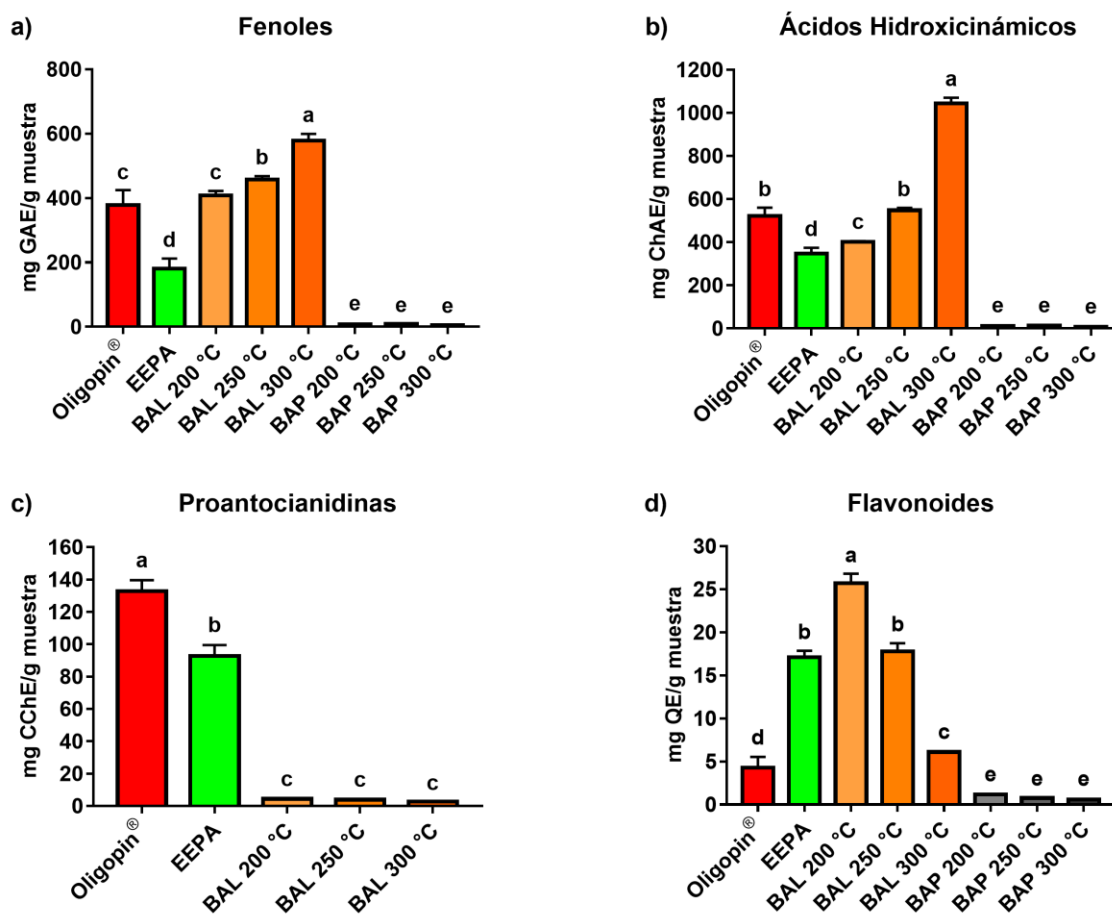


Figura 19. Pre-caracterización química. Los gráficos muestran la composición química general del extracto etanólico obtenido por maceración y de los bioaceites obtenidos por carbonización hidrotermal comparados con el extracto comercial Oligopin[®]. Se grafica el promedio $\pm$ la desviación estándar. Las diferentes letras (a, b, c, d, e) sobre cada una de las barras indican una diferencia estadísticamente significativa. $p \leq 0.05$ (ANOVA one way followed by Tukey's test). BAL, bioaceite ligero; BAP, bioaceite pesado; CChE,

equivalentes de cloruro de cianidina; ChAE, equivalentes de ácido clorogénico; EEPA, extracto etanólico de la cáscara de aguacate (*Persea americana* Mill. cultivar Hass); GAE, equivalentes de ácido gálico; QE, equivalentes de quercetina.

De acuerdo con los resultados obtenidos podemos apreciar que la concentración de fenoles fue significativamente más importante en los bioaceites ligeros, particularmente en los obtenidos a mayor temperatura (250 °C y 300 °C), seguidos del Oligopin® y del EEPA mientras que en los bioaceites pesados se determinó una menor concentración (**Figura 19**).

La concentración de ácidos hidroxicinámicos fue significativamente mayor en los bioaceites ligeros obtenidos a 300 °C y 250 °C seguidos del Oligopin®, el bioaceite ligero obtenido a 200 °C y el EEPA. El contenido de ácidos hidroxicinámicos en el bioaceite pesado obtenido a diferentes condiciones, no presentó una diferencia estadísticamente significativa ($p > 0.05$) y su concentración fue muy inferior al compararla con el extracto comercial Oligopin® ($p \leq 0.0001$) y el EEPA ($p \leq 0.0001$) (**Figura 19**).

La concentración de proantocianidinas fue mayor en el extracto comercial Oligopin® seguida del EEPA ($p \leq 0.0001$) y subsecuentemente de los bioaceites ligeros obtenidos a diferentes condiciones de temperatura y presión ($p > 0.05$). En el caso de los bioaceites pesados no se lograron identificar proantocianidinas mediante este método espectrofotométrico (**Figura 19**).

La concentración de flavonoides se mostró significativamente incrementada en el bioaceite ligero obtenido a 200 °C, seguido por el EEPA, y los bioaceites ligeros obtenidos a 250 °C y 300 °C, así como el Oligopin®. La concentración de flavonoides en el BAP obtenido a diferentes condiciones de reacción no presentó diferencia significativa ($p > 0.05$) y su concentración fue muy inferior al compararla con el extracto comercial Oligopin® ($p \leq 0.0001$) y el EEPA ($p \leq 0.0001$) (**Figura 19**).

Actividad antioxidante del extracto etanólico y de los bioaceites obtenidos por HTC

Con el objetivo de evaluar la actividad antioxidante de las muestras anteriormente mencionadas, se determinó la concentración necesaria de cada una de ellas para capturar en un 50% radicales de importancia biológica implicados en el proceso de envejecimiento celular cutáneo (EC_{50}). Los resultados fueron comparados con el extracto comercial

Oligopin® y Curcumina; procedente de la *Curcuma longa*, planta ampliamente utilizada en la medicina ayurvédica y en productos cosméticos (116) (**Figura 20**). Es importante mencionar que los bioaceites pesados no presentaron actividad para capturar a ninguno de los radicales estudiados.

El extracto comercial Oligopin® presentó la mayor actividad antioxidante para capturar al peróxido de hidrógeno al compararlo con el EEPA ($p \leq 0.0001$) y el BAL en todas las condiciones estudiadas ($p \leq 0.0001$). No hubo diferencia significativa entre el EEPA y el BAL 200 °C ($p > 0.05$) (**Figura 20**).

La actividad antioxidante del extracto comercial Oligopin® fue cuatro veces superior a la del EEPA para capturar el anión superóxido ($p \leq 0.0001$), sin embargo, la capacidad del BAL (200 °C, 250 °C y 300 °C) para capturar este radical fue considerablemente superior a la del Oligopin® ($p \leq 0.0001$) y a la del EEPA ($p \leq 0.0001$) (**Figura 20**).

El extracto comercial Oligopin® mostró una actividad antioxidante dos veces superior para capturar el radical peroxilo al compararlo con el EEPA ($p \leq 0.0001$) y tres veces superior al compararlo con el BAL ($p \leq 0.0001$). El EEPA a diferencia del BAL presentó una mejor actividad frente a este radical ($p \leq 0.0001$). Por otro lado, la actividad del BAL 300 °C y el BAL 250 °C fue mayor al compararla con el BAL 200 °C ($p \leq 0.001$ y $p \leq 0.01$ respectivamente) (**Figura 20**).

En cuanto a la capacidad de las muestras para captar al radical hidroxilo destacó la actividad del bioaceite ligero obtenido a 250 °C, seguido del bioaceite ligero a 300 °C, el extracto comercial Oligopin® y el EEPA. Por otro lado, la actividad antioxidante del BAL 200 °C para capturar este radical fue menor a la mostrada por el Oligopin® y el EEPA ($p \leq 0.001$) (**Figura 20**).

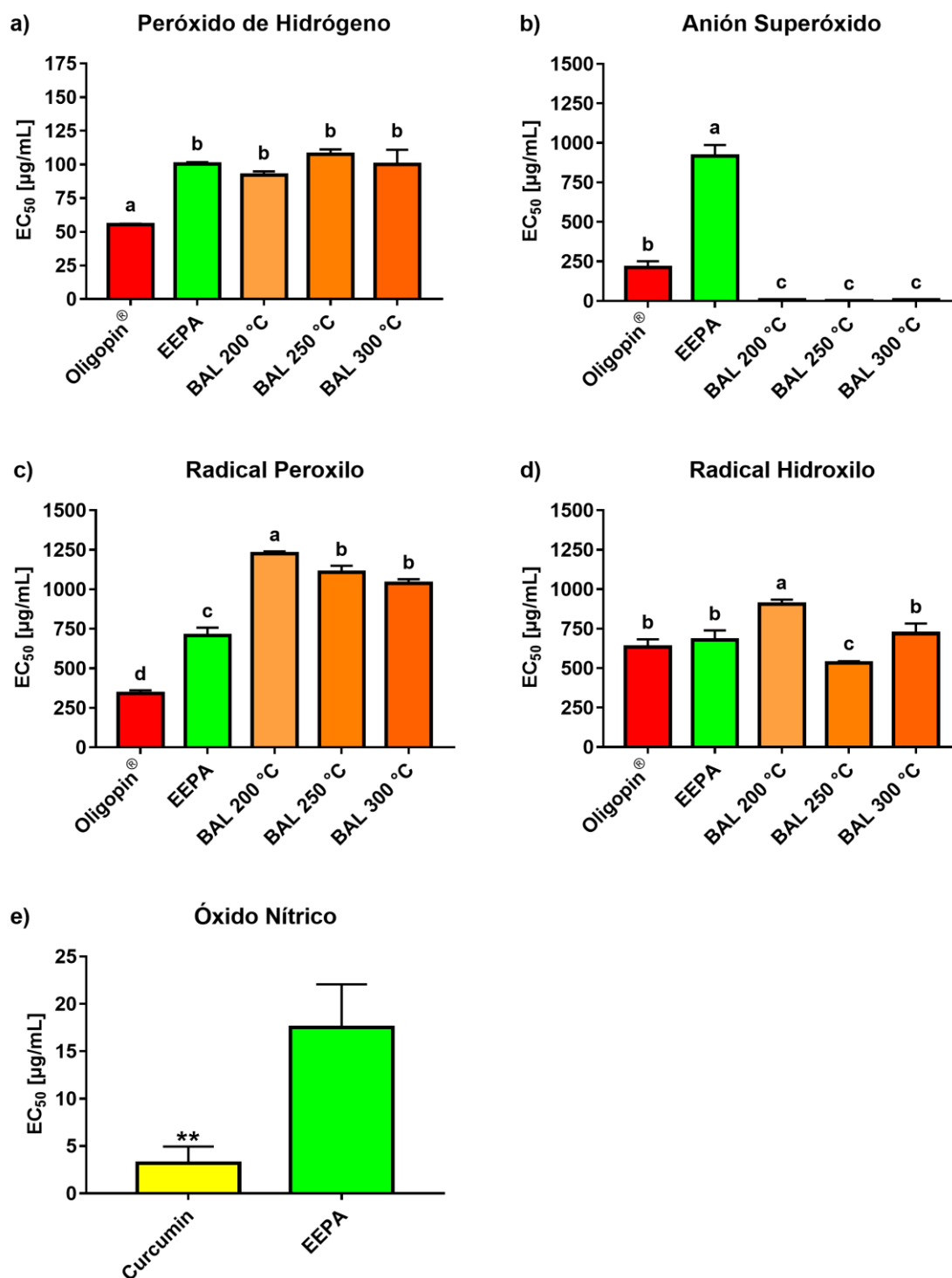


Figura 20. Actividad antioxidante. Los gráficos muestran la actividad antioxidante del extracto etanólico obtenido por maceración y del bioaceite ligero obtenido por carbonización hidrotermal comparados con el extracto comercial Oligopin® y Curcumin. El bioaceite pesado no presentó actividad antioxidante y el Oligopin® no presentó actividad frente al óxido nítrico ($EC_{50} > 1500 \mu\text{g/mL}$), datos no mostrados. Se grafica el promedio $\pm$ la desviación estándar. Las diferentes letras (a, b, c, d, e) sobre cada una de las barras indican una diferencia estadísticamente significativa; $p \leq 0.05$ (ANOVA one way followed by Tukey's test), $**p \leq$

0.01 (Student's t-test). BAL, bioaceite ligero; EC₅₀, concentración inhibitoria del 50%; EEPA, extracto etanólico de la cáscara de aguacate (*Persea americana* Mill. cultivar Hass).

La capacidad de las muestras para captar al óxido nítrico fue inferior a la mostrada frente a otros radicales. De hecho, solo se constató actividad para la curcumina, la que fue cinco veces superior al EEPA para inhibir la actividad del este radical ($p \leq 0.01$). El extracto comercial Oligopin[®] y el BAL no presentaron buena actividad ($EC_{50} > 1500 \mu\text{g/mL}$. Resultados no mostrados) (**Figura 20**).

Correlación de Spearman

Con el propósito de determinar la relación entre la concentración de diferentes tipos de compuestos fenólicos determinados en la caracterización química y la actividad antioxidante de las muestras analizadas frente a radicales de importancia biológica durante el envejecimiento, se calculó el coeficiente de correlación de Spearman (r) (**Tabla 10**).

Tabla 10. Correlación de Spearman. Correlación determinada entre los diferentes grupos de fenoles analizados y la capacidad antioxidante.

	H ₂ O ₂	O ₂ ^{•-}	ROO [•]	•OH	NO [•]
Fenoles	0.279	-0.761**	0.454	-0.082	0.500
Ácidos Hidroxycinámicos	0.029	-0.526*	-0.013	-0.229	0.500
Proantocianidinas	-0.527*	0.677**	-0.606*	-0.098	-1.000
Flavonoides	0.289	-0.154	0.754**	0.368	-0.500

Nota: En la tabla se indica el coeficiente de correlación de Spearman (r) entre la capacidad antioxidante y la concentración de compuestos fenólicos de las muestras analizadas. Correlación estadísticamente significativa: * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$. •OH, radical hidroxilo; H₂O₂, peróxido de hidrógeno; NO[•], óxido nítrico; O₂^{•-}, anión superóxido; ROO[•], radical peroxilo.

Con relación al análisis estadístico realizado, la capacidad para capturar al peróxido de hidrógeno está relacionada con la concentración de proantocianidinas ($r = -0.527$, $p \leq 0.05$). Esto indica que conforme aumenta la concentración de proantocianidinas se incrementa la capacidad para capturar el peróxido de hidrógeno, representada por una disminución de la EC₅₀.

La capacidad para inhibir la actividad del anión superóxido está fuertemente relacionada con la concentración de fenoles ($r = -0.761$, $p \leq 0.01$), y más débilmente con la presencia de ácidos hidroxycinámicos ($r = -0.526$, $p \leq 0.05$) en las muestras. En cambio, a la luz de los

resultados obtenidos puede decirse que un incremento en las proantocianidinas ($r = 0.677$, $p \leq 0.01$) influye negativamente en la capacidad para captar a este anión, ya que genera un aumento significativo de la EC_{50} . Esto significa que a una menor concentración de fenoles y ácidos hidroxicinámicos se incrementa la capacidad para capturar el anión superóxido, mientras que una elevada concentración de proantocianidinas sería desfavorable para captar a este radical.

De acuerdo con la correlación de Spearman, la capacidad para capturar el radical peroxilo quedó relacionada al contenido de proantocianidinas ($r = -0.606$, $p \leq 0.05$). Sin embargo, el contenido de flavonoides ($r = 0.754$, $p \leq 0.01$) parece impactar negativamente en la capacidad de las muestras para captar a este radical. En el caso de la capacidad para captar al radical hidroxilo y al óxido nítrico no se encontraron asociaciones significativas con los grupos de fenoles analizados.

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en nuestro estudio muestran un menor peso fresco de los aguacates respecto al reporte publicado por Rodríguez-Carpena y colaboradores (2011) utilizando aguacate (*Persea americana* variedad Hass), los que reportaron un peso fresco para el fruto de 310.25 ± 17.44 g y para la cáscara de 34.46 ± 3.73 g, mientras que el porcentaje en humedad en la cáscara que los autores reportan es de 75.96 ± 1.54 %, similar al encontrado en nuestra investigación (2).

Al comparar el porcentaje de rendimiento del EEPA ($7.78 \pm 4.02\%$) respecto a la literatura pudimos constatar que fue similar a lo reportado por Trujillo-Mayol y colegas para el extracto de la cáscara de aguacate de la variedad Hass quienes obtuvieron un porcentaje de rendimiento del $7.8 \pm 0.1\%$ (117). Con relación al biocarbón, pudo constatarse una disminución en su porcentaje de rendimiento en la medida que se incrementó la temperatura durante la HTC. Es así que de los $200\text{ }^{\circ}\text{C}$ a los $250\text{ }^{\circ}\text{C}$ el porcentaje de biocarbón obtenido disminuyó un 13.32% (del $68.54 \pm 0.55\%$ al $55.22 \pm 0.21\%$) y a los $300\text{ }^{\circ}\text{C}$ disminuyó un 13.75% (del $55.22 \pm 0.21\%$ al $41.47 \pm 1.24\%$). Estos rendimientos siguieron una tendencia similar a los reportados para el biocarbón de la biomasa de la caña de azúcar sometida por HTC a las temperaturas de $180\text{ }^{\circ}\text{C}$, $220\text{ }^{\circ}\text{C}$ y $250\text{ }^{\circ}\text{C}$ (118).

Los resultados derivados del FTIR sugieren la presencia de moléculas diferentes en el extracto etanólico vs. el aceite ligero y el aceite pesado debido a las diferencias de grupos funcionales en las muestras. El extracto etanólico muestra la mayor diversidad de grupos funcionales especialmente de grupos C=O característicos de ácidos carboxílicos, cetonas y/o amidas, enlaces C-H, grupos éter e hidroxilo, seguido del bioaceite pesado quien muestra la presencia de grupos carbonilo propio de ácidos carboxílicos, cetonas y amidas, así como grupos éter en compuestos aromáticos y cíclicos, mientras que el aceite ligero muestra la menor diversidad en grupos funcionales, aunque se muestra rico en grupos hidroxilo, probablemente fenoles. Aunque esta técnica no permite determinar con precisión la naturaleza de las moléculas presentes en el extracto convencional y las fracciones, los resultados del FTIR indican diferencias notables en la composición química entre las

muestras, por lo que podría hipotetizarse que también se encontrarán diferencias en la actividad antioxidante.

En cuanto a la caracterización química, los bioaceites ligeros presentaron el mayor contenido de fenoles totales con respecto al extracto etanólico y los bioaceites pesados. La concentración de fenoles en el caso del BAL-250 y 300 fue incluso superior a la mostrada por el Oligopin[®], evidenciándose una tendencia al aumento de fenoles conforme aumentaban la temperatura y presión de la HTC. Durante la HTC, el agua caliente funciona al mismo tiempo como disolvente y reactivo, ya que su constante dieléctrica se reduce en la medida que incrementa la temperatura, lo que posibilita que la solvatación del agua se aproxime a la de disolventes polares (119). Por consiguiente, durante este proceso fenoles con características intermedias de polaridad podrían incorporarse al bioaceite ligero. La presencia de fenoles durante la HTC puede explicarse a partir de la degradación de los componentes fundamentales de la biomasa: celulosa, hemicelulosa y lignina, así como de otros compuestos como péptidos presentes en la matriz vegetal. La celulosa se hidroliza principalmente a glucosa la que puede formar fructosa a través de la isomerización (120), mientras que la hemicelulosa se hidroliza principalmente a pentosa y algunos oligómeros de xilano y manano (121). La degradación de estos carbohidratos, seguido de una cascada de reacciones posteriores: formación de olefina/dieno, adición de Diels-Alder y aromatización posterior pueden dar lugar a la generación de fenoles dentro del bioaceite ligero (122). En cuanto a los péptidos, estos pueden hidrolizarse para liberar aminoácidos los que se degradan posteriormente en fenoles debido a las reacciones de descarboxilación y desaminación (123). Aunque las temperaturas que usamos durante la carbonización son moderadas y no permitirían una degradación completa de la lignina considerando que se trata de un polímero térmicamente estable, son suficientes para provocar una cierta degradación de esta, particularmente un incremento de estructuras tipo catecol, una vez iniciada la desmetilación (124). Un análisis con respecto a la literatura muestra similitud de nuestros resultados con relación a otros ya reportados que demuestran un incremento del contenido de fenoles en las hojas de orégano (125) y romero (126) como resultado de la HTC.

En cuanto al contenido de fenoles del extracto etanólico (EEPA), nuestros resultados muestran concentraciones superiores a las reportadas por Morais y colaboradores (2015)

(1252.31 $\pm$ 165.62 mg GAE/100 g de extracto) (127), Vinha y colegas (2013) (1252.31 $\pm$ 165.62 mg GAE/100 g de extracto) (73) y Rodríguez-Carpena y colaboradores (2011) (8997 $\pm$ 3103 mg GAE/100 g de peso seco) (2). Las diferencias encontradas con respecto a nuestro estudio podrían ser atribuidas a las diferentes variedades de aguacate utilizadas, así como al cambio en las condiciones geográficas, climáticas y del suelo que puede impactar en el contenido de metabolitos secundarios en los extractos.

Los bioaceites ligeros a temperaturas más elevadas presentaron el mayor contenido en ácidos hidroxicinámicos. La presencia de ácidos hidroxicinámicos particularmente de ácido cinámico, ácido p-cumárico y ácido ferúlico ha sido reportada en la fracción acuosa obtenida por HTC a 220 °C a partir de residuos sólidos derivados de la producción de aceite de oliva, mientras que un incremento del contenido de ácido propiónico fue reportado con biomásas de trigo, madera de álamo y pino sometidas a HTC a temperaturas 190 °C, 230 °C, 250 °C y 270 °C (128).

Contrariamente a la tendencia mostrada para los fenoles totales y ácidos hidroxicinámicos, los flavonoides disminuyeron en los bioaceites ligeros en proporción con la temperatura de reacción. Morais y colaboradores (2015) reportaron un contenido de flavonoides inferior al de nuestro estudio en un extracto de cáscara de aguacate 139.95 $\pm$ 13.19 mg QE/100 g de extracto (127), aunque el estudio no precisa la variedad de aguacate empleado.

En cuanto al contenido de proantocianidinas, fue muy inferior en los bioaceites ligero y pesado comparativamente al extracto etanólico y al Oligopin[®]. Nuestros resultados sugieren que una degradación de los flavonoides y las proantocianidinas (cuya estructura base la constituyen unidades de flavan-3-ol) ocurre durante la HTC, lo que también fue constatado por Poerschman y colaboradores en 2015 para la fracción acuosa derivada de la HTC de subproductos sólidos de la industria cervecera (129).

Las concentraciones obtenidas de los diferentes fenoles en el extracto comercial Oligopin[®] son similares a las reportadas por García-Pérez y colaboradores (2010) (108). Este extracto, obtenido a partir de cortezas de *Pinus pinaster*, fue empleado en nuestra investigación como control positivo, ya que es un reconocido producto natural antioxidante, rico en fenoles ampliamente utilizado en la dermocosmética (130).

La lógica acerca de estudiar la capacidad del extracto y las muestras obtenidas por HTC

hacia la captación de especies reactivas de oxígeno como una primera etapa para verificar su utilidad en el envejecimiento cutáneo procede de estudios que han demostrado que el fotoenvejecimiento se inicia a través de la generación fotoquímica de diferentes especies oxidantes como el anión superóxido, peróxido de hidrógeno, radical hidroxilo y oxígeno singulete (131).

Como se esperaba considerando los resultados de la caracterización química que mostraron diferencias en cuanto al contenido de fenoles y grupos funcionales entre las diversas muestras, se constataron variaciones en la capacidad antioxidante frente a especies oxidantes involucradas en el envejecimiento. Los bioaceites ligeros a las diferentes temperaturas pudieron captar más eficientemente al anión superóxido, mientras que el extracto comercial Oligopin® fue el extracto más eficiente para capturar al peróxido de hidrógeno y al radical peroxilo. Por su parte, el bioaceite ligero a 250 °C mostró la mejor capacidad antioxidante frente al radical hidroxilo, mientras que el extracto etanólico fue la única muestra capaz de captar al óxido nítrico. La correlación de Spearman permitió explicar la diferencia en la capacidad antioxidante mostrada entre las muestras.

La capacidad para inhibir la actividad del anión superóxido estuvo fuertemente relacionada con la concentración de fenoles ($r = -0.761$, $p \leq 0.01$), y más débilmente con la presencia de los ácidos hidroxycinámicos ($r = -0.526$, $p \leq 0.05$), mientras que un incremento en las proantocianidinas ($r = 0.677$, $p \leq 0.01$) influyó negativamente en captación de este anión. Se ha demostrado que los extractos con mayores concentraciones en fenoles totales y ácidos hidroxycinámicos son generalmente mejores para captar a este anión (108,132). En cuanto al efecto negativo de las proantocianidinas sobre la captación de este anión, no fue posible encontrar una explicación mecanística en la literatura científica, pero es posible que estos efectos se deban a los efectos pro-oxidativos de estas moléculas (133).

La correlación de Spearman mostró que la capacidad para capturar al peróxido de hidrógeno estuvo relacionada con la concentración de proantocianidinas ($r = -0.527$, $p \leq 0.05$). La literatura demuestra que extractos naturales ricos en proantocianidinas como las semillas de uva son buenos captadores de este agente oxidante (134), lo que podría explicar que las muestras con mayor cantidad de estos compuestos, notablemente el Oligopin® y el EEPA posean la mayor capacidad de captar al peróxido de hidrógeno.

La capacidad para capturar el radical peroxilo se relacionó al contenido de proantocianidinas ($r = -0.606$, $p \leq 0.05$), mientras que el contenido de flavonoides parece impactar negativamente en la capacidad de las muestras para captar a este radical ($r = 0.754$, $p \leq 0.01$). Existe evidencia experimental que indica claramente que las proantocianidinas oligoméricas se caracterizan por una eficiencia de captación del radical peroxilo más fuerte que sus unidades monoméricas (135). Se ha postulado que la capacidad de los flavonoides para captar radicales peroxilo depende de su naturaleza y estructura molecular. De hecho, la sustitución de grupos O-metoxi por grupos hidroxilo en la posición 3 del anillo C disminuye significativamente la capacidad de captación de radicales peroxilo por parte de los flavanoles (136). Además, se ha reportado que los flavonoides con un patrón de sustituyentes de tipo fenol en su anillo B, como la apigenina y la naringenina, generan una mayor peroxidación de lípidos y actúan como un pro-oxidante en concentraciones donde otros flavonoides todavía estaban activos como antioxidantes (137). El análisis químico presentado en este estudio no permite conocer con precisión la estructura molecular de los flavonoides presentes en las muestras, por lo que estudios subsecuentes en este sentido deben realizarse en el futuro para explicar con precisión el impacto negativo del contenido de flavonoides en la captación de este radical.

En el caso de la capacidad para captar al radical hidroxilo no se encontraron asociaciones significativas entre la actividad antioxidante determinada por la EC_{50} y los grupos de fenoles analizados. Es posible que esta actividad esté modulada por otros metabolitos secundarios, no determinados en este estudio, notablemente lignanos, neolignanos, cumarinas y estibenos. Llama la atención el efecto antioxidante superior mostrado por el BAL 250 °C comparativamente con las otras muestras analizadas sobre este radical. No se encontraron estudios que hayan analizado la capacidad de captación del radical hidroxilo utilizando bioaceites obtenidos por carbonización hidrotérmica. Sin embargo, nuestros resultados concuerdan con investigaciones previas que demuestran la capacidad de extractos de aguacate, particularmente de hojas y fruto para captar a este radical (138,139).

El extracto etanólico fue el único, de entre las muestras analizadas, que tuvo capacidad para captar al óxido nítrico. Otros estudios han demostrado que extractos de esta planta obtenidos de diferentes tejidos como las hojas presentan capacidad para capturar al óxido nítrico (138). Este resultado resulta interesante considerando el papel del óxido nítrico en la

fisiología cutánea. Cuando este radical se presenta en bajas concentraciones desempeña un papel en el mantenimiento de la función de barrera de la piel, mientras que niveles elevados de NO después de la irradiación con luz UV estimula el inicio de la melanogénesis, el eritema y la inmunosupresión, tres procesos deletéreos para la piel, que contribuyen a la hiperpigmentación y a su cambio de apariencia (140).

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en esta investigación permitieron demostrar la presencia de fenoles totales, ácidos hidroxicinámicos, flavonoides y proantocianidinas en el extracto etanólico de cáscaras de aguacate y en las fracciones obtenidas por carbonización hidrotérmica, aunque la proporción relativa de estos compuestos fue diferente. Los bioaceites ligeros resultaron ser ricos en fenoles, ácidos hidroxicinámicos y flavonoides (BAL-200), mientras que el extracto etanólico extrajo más eficazmente a las proantocianidinas. Similarmente, el análisis FTIR evidenció un perfil distinto en los grupos funcionales predominantes en las muestras analizadas, siendo el extracto etanólico y los bioaceites pesados los de mayor riqueza en grupos funcionales.

Las diferencias en la composición química de las muestras motivaron que el extracto etanólico y los bioaceites obtenidos por HTC mostraran una capacidad distinta para captar las diferentes especies reactivas de oxígeno y nitrógeno involucradas en el envejecimiento, siendo los bioaceites ligeros más eficientes para captar a los radicales superóxido e hidroxilo, mientras que el extracto captó más eficazmente al óxido nítrico y radical peroxilo. La capacidad para captar al peróxido de hidrógeno fue comparable en el extracto y los bioaceites ligeros, mientras que los bioaceites pesados no mostraron ningún efecto antioxidante. Resumiendo, estos resultados demuestran que las cáscaras de aguacate constituyen una fuente de moléculas activas antioxidantes y que el uso conjunto de la extracción con la carbonización hidrotérmica representa una estrategia novedosa para maximizar la obtención de fracciones bioactivas a partir de este subproducto de la industria alimentaria.

RECOMENDACIONES

- ✓ Realizar estudios de caracterización química que permitan determinar la estructura molecular de los fenoles presentes en el extracto y bioaceites obtenidos por HTC.
- ✓ Realizar estudios sobre otros marcadores del envejecimiento cutáneo (metaloproteinasas de matriz, interleucinas, etc.), para confirmar el potencial farmacológico anti-envejecimiento del extracto y fracciones obtenidas por carbonización hidrotérmica.

REFERENCIAS

1. Saavedra J, Córdova A, Navarro R, Díaz-Calderón P, Fuentealba C, Astudillo-Castro C, et al. Industrial avocado waste: Functional compounds preservation by convective drying process. *J Food Eng.* el 1 de abril de 2017;198:81–90.
2. Rodríguez-Carpena JG, Morcuende D, Andrade MJ, Kylli P, Estévez M. Avocado (*Persea americana* Mill.) phenolics, in vitro antioxidant and antimicrobial activities, and inhibition of lipid and protein oxidation in porcine patties. *J Agric Food Chem.* el 25 de mayo de 2011;59(10):5625–35.
3. Figueroa JG, Borrás-Linares I, Del Pino-García R, Curiel JA, Lozano-Sánchez J, Segura-Carretero A. Functional ingredient from avocado peel: Microwave-assisted extraction, characterization and potential applications for the food industry. *Food Chem.* el 1 de agosto de 2021;352:129300.
4. Oswell NJ, Thippareddi H, Pegg RB. Practical use of natural antioxidants in meat products in the U.S.: A review. *Meat Sci.* noviembre de 2018;145:469–79.
5. Salazar-López NJ, Domínguez-Avila JA, Yahia EM, Belmonte-Herrera BH, Wall-Medrano A, Montalvo-González E, et al. Avocado fruit and by-products as potential sources of bioactive compounds. *Food Res Int.* diciembre de 2020;138(Pt A):109774.
6. Valente G, Barreto Rocha NT, de Abreu BG, de Oliveira RJH, Costa CJ, Aparecida Souza MB. Technological Potential of Avocado Oil: Prospective Study Based on Patent Documents. *Recent Pat Biotechnol.* 2019;13(4):304–15.
7. Poljšak B, Dahmane RG, Godić A. Intrinsic skin aging: the role of oxidative stress. *Acta Dermatovenerol Alp Pannonica Adriat.* 2012;21(2):33–6.

8. Hwa C, Bauer EA, Cohen DE. Skin biology. *Dermatol Ther.* octubre de 2011;24(5):464–70.
9. Khavkin J, Ellis DAF. Aging skin: histology, physiology, and pathology. *Facial Plast Surg Clin North Am.* mayo de 2011;19(2):229–34.
10. Arda O, Göksüğü N, Tüzün Y. Basic histological structure and functions of facial skin. *Clin Dermatol.* febrero de 2014;32(1):3–13.
11. Manteca A, Villegas JC. Biología de la piel y cáncer. [Internet]. Universidad de Cantabria; 2013 [citado el 24 de noviembre de 2021]. Disponible en: <https://repositorio.unican.es/xmlui/bitstream/handle/10902/2204/MantecaMartinA.pdf?sequence=1>
12. Bouwstra JA, Honeywell-Nguyen PL, Gooris GS, Ponc M. Structure of the skin barrier and its modulation by vesicular formulations. *Prog Lipid Res.* enero de 2003;42(1):1–36.
13. Coderch L, López O, de la Maza A, Parra JL. Ceramides and skin function. *Am J Clin Dermatol.* 2003;4(2):107–29.
14. Madison KC. Barrier function of the skin: “la raison d’être” of the epidermis. *J Invest Dermatol.* agosto de 2003;121(2):231–41.
15. Díaz MG, Gallardo L. Proteínas dérmicas: Colágeno & fibras elásticas. *Dermatol Venez.* 2019;57(2):7–15.
16. Wong R, Geyer S, Weninger W, Guimberteau JC, Wong JK. The dynamic anatomy and patterning of skin. *Exp Dermatol.* febrero de 2016;25(2):92–8.
17. Lozada SM, Rueda R. Envejecimiento cutáneo. *Rev Asoc Colomb Dermatol.* 2010;18(1):10–7.

18. Alves R, Castro Esteves T, Trelles MA. Factores intrínsecos y extrínsecos implicados en el envejecimiento cutáneo. *Cir Plást Iberolanoam*. marzo de 2013;39(1):89–102.
19. Martín JP. Menopausia, envejecimiento y fotoenvejecimiento. *Dermatol Venez* [Internet]. 1990 [citado el 12 de diciembre de 2021];28(2). Disponible en: <http://revista.svderma.org/index.php/ojs/article/view/852>
20. Kohl E, Steinbauer J, Landthaler M, Szeimies RM. Skin ageing. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. agosto de 2011;25(8):873–84.
21. Russell-Goldman E, Murphy GF. The Pathobiology of Skin Aging: New Insights into an Old Dilemma. *Am J Pathol*. julio de 2020;190(7):1356–69.
22. Lozada SM, García L. Estrés oxidativo y antioxidantes: cómo mantener el equilibrio. *Rev Asoc Col Dermatol*. 2009;17(3):172–9.
23. Rabe JH, Mamelak AJ, McElgunn PJS, Morison WL, Sauder DN. Photoaging: mechanisms and repair. *J Am Acad Dermatol*. julio de 2006;55(1):1–19.
24. Pillai S, Oresajo C, Hayward J. Ultraviolet radiation and skin aging: roles of reactive oxygen species, inflammation and protease activation, and strategies for prevention of inflammation-induced matrix degradation - a review. *Int J Cosmet Sci*. febrero de 2005;27(1):17–34.
25. Martin D. Los Compuestos Fenólicos, Un Acercamiento A Su Biosíntesis, Síntesis Y Actividad Biológica. *RIAA*. el 26 de febrero de 2018;9.
26. Santos-Buelga C, Gonzalez-Manzano S, Dueñas M, Gonzalez-Paramas AM. Extraction and isolation of phenolic compounds. *Methods Mol Biol*. 2012;864:427–64.

27. Quiñones M. Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Nutr Hosp.* el 1 de enero de 2012;(1):76–89.
28. Padilla FC, Rincón AM, Bou-Rached L. Contenido de polifenoles y actividad antioxidante de varias semillas y nueces. *Arch Latinoam Nutr.* septiembre de 2008;58(3):303–8.
29. Kroon PA, Williamson G. Hydroxycinnamates in plants and food: Current and future perspectives. *J Sci Food Agric.* el 1 de enero de 1999;79(3):355–61.
30. Stevanovic T, Diouf P, Garcia-Perez M. Bioactive Polyphenols from Healthy Diets and Forest Biomass. *Curr Nutr Food Sci.* 2009;5(4):264.
31. Isaza JH. Taninos o polifenoles vegetales. *Scientia et Technica.* 2007;1(33):13–8.
32. Quideau S, Deffieux D, Douat-Casassus C, Pouységu L. Plant Polyphenols: Chemical Properties, Biological Activities, and Synthesis. *Angew Chem Int Ed.* el 17 de enero de 2011;50(3):586–621.
33. Gambini J, Inglés M, Olaso G, Lopez-Grueso R, Bonet-Costa V, Gimeno-Mallench L, et al. Properties of Resveratrol: In Vitro and In Vivo Studies about Metabolism, Bioavailability, and Biological Effects in Animal Models and Humans. *Oxid Med Cell Longev.* 2015;2015:837042.
34. Mark R, Lyu X, Lee JJJ, Parra-Saldívar R, Chen WN. Sustainable production of natural phenolics for functional food applications. *J Funct Foods.* junio de 2019;57:233–54.
35. Menaa F, Menaa A, Tréton J. Chapter 63 - Polyphenols against Skin Aging. En: *Polyphenols in Human Health and Disease.* 2014. p. 819–30.
36. Pérez Álvarez S, Ávila Quezada G, Coto Arabelo O. El aguacatero (*Persea americana* Mill). *Cult Trop.* 2015;36(2):111–23.

37. Fonseca P, Alves M, Dellingshausen C, Barboza CR. Avocado: characteristics, health benefits and uses. *Ciênc Rurales*. abril de 2016;46(4):747–54.
38. Chil-Núñez I, Molina-Bertrán S, Ortiz-Zamora L, Dutok CMS, Souto R. Estado del Arte de la especie *Persea americana* Mill (aguacate). *Rev Amazon Investigando*. el 31 de agosto de 2019;8(21):73–86.
39. FAO. Las principales frutas tropicales. Análisis del mercado 2018 [Internet]. FAO; 2020 [citado el 10 de diciembre de 2021]. Disponible en: <https://www.fao.org/publications/card/es/c/CA5692ES/>
40. Galindo M, Arzate-Fernández A, Ogata-Aguilar N, Landero-Torres I. The Avocado (*Persea Americana*, Lauraceae) Crop in Mesoamerica: 10,000 Years of History. *Harvard Pap Bot*. el 1 de diciembre de 2007;12(2):325–34.
41. Galindo ME, Lee HE, Murguía J, Leyva OR, Landero I. Domesticación y distribución geográfica de *Persea americana* Mill. en la época precolombina. *Revista de Geografía Agrícola*. 2013;50–51:65–70.
42. Gutiérrez-Contreras M, Lara-Chávez MBN, Guillén-Andrade H, Chávez-Barcenas AT. Agroecología de la franja aguacatera en Michoacán, México. *Interciencia*. septiembre de 2010;35(9):647–53.
43. Cruz-Maya ME, Barrientos-Priego AF, Zelaya-Molina LX, Rodríguez-de la O JL, Reyes-Alemán JC. Phylogenetic analysis of some members of the subgenus *Persea* (*Persea*, Lauraceae). *Rev Chapingo Ser Hortic*. agosto de 2018;24(2):133–50.
44. Guillén-Andrade H, Escalera-Ordaz AK, Torres-Gurrola G, García-Rodríguez YM, Espinosa García FJ, Tapia-Vargas LM, et al. Identificación de nuevos metabolitos secundarios en *Persea americana* Miller variedad *Drymifolia*. *Rev Mex Cienc Agrícolas*. noviembre de 2019;10(SPE23):253–65.

45. Vivero A, Valenzuela R, Valenzuela A, Morales G. Palta: compuestos bioactivos y sus potenciales beneficios en salud. *Rev chil nutrición*. agosto de 2019;46(4):491–8.
46. USDA. FoodData Central. Aguacates, crudos, todas las variedades comerciales. [Internet]. 2019 [citado el 8 de febrero de 2021]. Disponible en: <https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/food-details/171705/nutrients>
47. Cordero J, Boshier DH, editores. Árboles de Centroamérica: un manual para extensionistas. Turrialba, Costa Rica: CATIE; 2003. 1079 p.
48. Figueroa JG, Borrás-Linares I, Lozano-Sánchez J, Segura-Carretero A. Comprehensive identification of bioactive compounds of avocado peel by liquid chromatography coupled to ultra-high-definition accurate-mass Q-TOF. *Food Chem*. el 15 de abril de 2018;245:707–16.
49. Bhuyan DJ, Alsherbiny MA, Perera S, Low M, Basu A, Devi OA, et al. The Odyssey of Bioactive Compounds in Avocado (*Persea americana*) and Their Health Benefits. *Antioxidants*. el 24 de septiembre de 2019;8(10):426.
50. López-Cobo A, Gómez-Caravaca AM, Pasini F, Caboni MF, Segura-Carretero A, Fernández-Gutiérrez A. HPLC-DAD-ESI-QTOF-MS and HPLC-FLD-MS as valuable tools for the determination of phenolic and other polar compounds in the edible part and by-products of avocado. *Food Sci Technol*. el 1 de noviembre de 2016;73:505–13.
51. Figueroa JG, Borrás-Linares I, Lozano-Sánchez J, Quirantes-Piné R, Segura-Carretero A. Optimization of drying process and pressurized liquid extraction for recovery of bioactive compounds from avocado peel by-product. *Electrophoresis*. el 16 de abril de 2018;

52. Rosero JC, Cruz S, Osorio C, Hurtado N. Analysis of Phenolic Composition of Byproducts (Seeds and Peels) of Avocado (*Persea americana* Mill.) Cultivated in Colombia. *Molecules*. el 3 de septiembre de 2019;24(17):E3209.
53. Wang W, Bostic TR, Gu L. Antioxidant capacities, procyanidins and pigments in avocados of different strains and cultivars. *Food Chem*. el 15 de octubre de 2010;122(4):1193–8.
54. Tremocoldi MA, Rosalen PL, Franchin M, Massarioli AP, Denny C, Daiuto ÉR, et al. Exploration of avocado by-products as natural sources of bioactive compounds. *PLoS One*. 2018;13(2):e0192577.
55. Kosińska A, Karamać M, Estrella I, Hernández T, Bartolomé B, Dykes GA. Phenolic Compound Profiles and Antioxidant Capacity of *Persea americana* Mill. Peels and Seeds of Two Varieties. *J Agric Food Chem*. el 9 de mayo de 2012;60(18):4613–9.
56. Ganceviciene R, Liakou AI, Theodoridis A, Makrantonaki E, Zouboulis CC. Skin anti-aging strategies. *Dermatoendocrinol*. el 1 de julio de 2012;4(3):308–19.
57. Mukherjee PK, Maity N, Nema NK, Sarkar BK. Bioactive compounds from natural resources against skin aging. *Phytomedicine*. el 15 de diciembre de 2011;19(1):64–73.
58. Pullar JM, Carr AC, Vissers MCM. The Roles of Vitamin C in Skin Health. *Nutrients*. el 12 de agosto de 2017;9(8):866.
59. Richelle M, Steiling H, Castiel I. Bioavailability and Skin Bioefficacy of Vitamin C and E. *Nutritional Cosmetics*. el 31 de diciembre de 2009;115–38.
60. Nachbar F, Korting HC. The role of vitamin E in normal and damaged skin. *J Mol Med (Berl)*. enero de 1995;73(1):7–17.

61. Ramos-e-Silva M, da Silva Carneiro SC. Elderly skin and its rejuvenation: products and procedures for the aging skin. *J Cosmet Dermatol.* marzo de 2007;6(1):40–50.
62. Prakash L, Majeed M. Natural ingredients for anti-ageing skin care. *H and PC Today.* 2009;(2):44–6.
63. Casetti F, Bartelke S, Biehler K, Augustin M, Schempp CM, Frank U. Antimicrobial activity against bacteria with dermatological relevance and skin tolerance of the essential oil from *Coriandrum sativum* L. fruits. *Phytother Res.* marzo de 2012;26(3):420–4.
64. Boucard N, Viton C, Agay D, Mari E, Roger T, Chancerelle Y, et al. The use of physical hydrogels of chitosan for skin regeneration following third-degree burns. *Biomaterials.* agosto de 2007;28(24):3478–88.
65. Andersson AC, Alander J. Shea butter extract for bioactive skin care. *Cosmetics & Toiletries.* 2015;130:18–25.
66. Souza A do PB de. Influência da L-arginina na síntese de colágeno em cultura de fibroblastos dérmicos humanos [Internet] [Tesis Doctoral]. [Brasil]: Universidade de Brasília Faculdade de Ciências da Saúde programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas; 2016 [citado el 27 de enero de 2022]. Disponible en: <https://repositorio.unb.br/handle/10482/22253>
67. Van Scott EJ, Yu RJ. Control of keratinization with alpha-hydroxy acids and related compounds. I. Topical treatment of ichthyotic disorders. *Arch Dermatol.* octubre de 1974;110(4):586–90.
68. Morreale M, Livrea MA. Synergistic effect of glycolic acid on the antioxidant activity of alpha-tocopherol and melatonin in lipid bilayers and in human skin homogenates. *Biochem Mol Biol Int.* septiembre de 1997;42(6):1093–102.

69. Santana I, Castelo-Branco VN, Guimarães BM, Silva L de O, Peixoto VODS, Cabral LMC, et al. Hass avocado (*Persea americana* Mill.) oil enriched in phenolic compounds and tocopherols by expeller-pressing the unpeeled microwave dried fruit. *Food Chem.* el 15 de julio de 2019;286:354–61.
70. Calderón-Oliver M, Escalona-Buendía HB, Medina-Campos ON, Pedraza-Chaverri J, Pedroza-Islas R, Ponce-Alquicira E. Optimization of the antioxidant and antimicrobial response of the combined effect of nisin and avocado byproducts. *LWT - Food Science and Technology.* el 1 de enero de 2016;65:46–52.
71. Daiuto ÉR, Tremocoldi MA, Alencar SM de, Vieites RL, Minarelli PH. Composição química e atividade antioxidante da polpa e resíduos de abacate “Hass”. *Rev Bras Frutic.* junio de 2014;36:417–24.
72. Bertling I, Tesfay S, Bower JP. Antioxidants in “Hass” avocado. *South African Avocado Growers’ Association Yearbook.* el 1 de enero de 2007;30.
73. Vinha A, Moreira J, SVP B. Physicochemical Parameters, Phytochemical Composition and Antioxidant Activity of the Algarvian Avocado (*Persea americana* Mill.). *J Agric Sci.* el 15 de noviembre de 2013;5(12):100–9.
74. Amado DAV, Helmann GAB, Detoni AM, Carvalho SLC de, Aguiar CM de, Martin CA, et al. Antioxidant and antibacterial activity and preliminary toxicity analysis of four varieties of avocado (*Persea americana* Mill.). *Braz J Food Technol* [Internet]. el 1 de abril de 2019 [citado el 13 de marzo de 2022];22. Disponible en: <http://www.scielo.br/j/bjft/a/D5ZXYLRqrY5K6RX6G8mj8sw/?lang=en>
75. Corrales-García JE, del Rosario García-Mateos M, Martínez-López E, Barrientos-Priego AF, Ybarra-Moncada MC, Ibarra-Estrada E, et al. Anthocyanin and Oil

- Contents, Fatty Acids Profiles and Antioxidant Activity of Mexican Landrace Avocado Fruits. *Plant Foods Hum Nutr.* el 1 de junio de 2019;74(2):210–5.
76. Oboh G, Adelusi TI, Akinyemi AJ. Inhibitory effect of phenolic extract from leaf and fruit of avocado pear (*Persea americana*) on Fe²⁺ induced lipid peroxidation in rats' pancreas in vitro. *FUTA- J Res Sci.* 2013;9(2):276–86.
 77. Boyadzhieva S, Georgieva S, Angelov G. Recovery of antioxidant phenolic compounds from avocado peels by solvent extraction. *Bulg Chem Commun.* 2018;50:83–9.
 78. Widsten P, Cruz CD, Fletcher GC, Pajak MA, McGhie TK. Tannins and extracts of fruit byproducts: antibacterial activity against foodborne bacteria and antioxidant capacity. *J Agric Food Chem.* el 19 de noviembre de 2014;62(46):11146–56.
 79. Hürkul MM, Sarialtın SY, Koroğlu A, Çoban T, Hürkul MM, Sarialtın SY, et al. In vitro inhibitory potential of avocado fruits, *Persea americana* (Lauraceae) against oxidation, inflammation and key enzymes linked to skin diseases. *Rev biol tropical.* junio de 2021;69(2):472–81.
 80. Dreher ML, Davenport AJ. Hass avocado composition and potential health effects. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2013;53(7):738–50.
 81. Beltrán B, Estévez R, Cuadrado C, Jiménez S, Begoña A. Base de datos de carotenoides para valoración de la ingesta dietética de carotenos, xantofilas y de vitamina A; utilización en un estudio comparativo del estado nutricional en vitamina A de adultos jóvenes. *Nutr Hosp.* el 1 de julio de 2012;27(4):1334–43.
 82. Ramos-Aguilar A, Ornelas-Paz J, Tapia L, Ruiz-Cruz S, Gardea-Bejar A, Yahia E, et al. The importance of the bioactive compounds of avocado fruit (*Persea americana* Mill) on human health. *Biocencia.* el 12 de agosto de 2019;XXI:154–62.

83. de Lima Cherubim DJ, Buzanello Martins CV, Oliveira Fariña L, da Silva de Lucca RA. Polyphenols as natural antioxidants in cosmetics applications. *J Cosmet Dermatol.* enero de 2020;19(1):33–7.
84. Ricciarelli R, Maroni P, Ozer N, Zingg JM, Azzi A. Age-dependent increase of collagenase expression can be reduced by alpha-tocopherol via protein kinase C inhibition. *Free Radic Biol Med.* octubre de 1999;27(7–8):729–37.
85. Nayak BS, Raju SS, Chalapathi Rao AV. Wound healing activity of *Persea americana* (avocado) fruit: a preclinical study on rats. *J Wound Care.* marzo de 2008;17(3):123–6.
86. Soquetta MB, Terra L de M, Bastos CP. Green technologies for the extraction of bioactive compounds in fruits and vegetables. *CyTA-J Food.* el 1 de enero de 2018;16(1):400–12.
87. Azmir J, Zaidul ISM, Rahman MM, Sharif KM, Mohamed A, Sahena F, et al. Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *J Food Eng.* el 1 de agosto de 2013;117(4):426–36.
88. Duarte Trujillo AS, Jiménez Forero JA, Pineda Insuasti JA, González Trujillo CA, García Juárez M. Extracción de sustancias bioactivas de *Pleurotus ostreatus* (Pleurotaceae) por maceración dinámica. *Acta Biol Colomb.* el 1 de enero de 2020;25(1):61–74.
89. Castro MR, Laredo RFG. Comparación del contenido de compuestos fenólicos en la corteza de ocho especies de pino. *Madera bosques.* 2003;9(2):41–9.
90. Deng Q, Zinoviadou KG, Galanakis CM, Orlie V, Grimi N, Vorobiev E, et al. The Effects of Conventional and Non-conventional Processing on Glucosinolates and Its

- Derived Forms, Isothiocyanates: Extraction, Degradation, and Applications. Food Eng Rev. el 1 de septiembre de 2015;7(3):357–81.
91. Abaide ER, Zabot GL, Tres MV, Martins RF, Fagundez JL, Nunes LF, et al. Yield, composition, and antioxidant activity of avocado pulp oil extracted by pressurized fluids. Food Bioprod Process. el 1 de marzo de 2017;102:289–98.
 92. Sánchez-Camargo A del P. Desarrollo de nuevas estrategias de extracción para la obtención de compuestos bioactivos. [Internet] [Tesis Doctoral]. [Madrid, España]: Universidad Autónoma de Madrid; 2017. Disponible en: <https://digital.csic.es/handle/10261/196050>
 93. Corzzini SCS, Barros HDFQ, Grimaldi R, Cabral FA. Extraction of edible avocado oil using supercritical CO₂ and a CO₂/ethanol mixture as solvents. J Food Eng. el 1 de febrero de 2017;194:40–5.
 94. Barros HDFQ, Grimaldi R, Cabral FA. Lycopene-rich avocado oil obtained by simultaneous supercritical extraction from avocado pulp and tomato pomace. J Supercrit Fluids. el 1 de febrero de 2017;120:1–6.
 95. Páramos PRS, Granjo JFO, Corazza ML, Matos HA. Extraction of high value products from avocado waste biomass. J Supercrit Fluids. el 1 de noviembre de 2020;165:104988.
 96. Pérez-Loredo MG, Hernández-De Jesús L, Barragán-Huerta BE, Pérez-Loredo MG, Hernández-De Jesús L, Barragán-Huerta BE. Extracción de compuestos bioactivos de Pitaya Roja (*Stenocereus stellatus*) aplicando pretratamientos con microondas, ultrasonido y enzimáticos. Agrociencia. marzo de 2017;51(2):135–51.
 97. Wong-Paz JE, Aguilar-Zárate P, Veana F, Muñiz-Márquez DB. Impacto de las tecnologías de extracción verdes para la obtención de compuestos bioactivos de los

- residuos de frutos cítricos. *TIP Rev Esp Cienc Quim Biol.* el 18 de diciembre de 2020;23(1):1–11.
98. Tekin K, Karagöz S, Bektaş S. A review of hydrothermal biomass processing. *Renew Sust Energ Rev.* el 1 de diciembre de 2014;40:673–87.
 99. Fraunhofer. Carbonización hidrotermal: una solución para el tratamiento y disposición de residuos orgánicos [Internet]. Fraunhofer Chile Research. 2022 [citado el 4 de febrero de 2022]. Disponible en: <https://www.fraunhofer.cl/es/fcrsb/BA/biotecnologia-ambiental/carbonizacion-hidrotermal-de-residuos-organicos-.html>
 100. Ponce-Ballester E. El proceso de carbonización hidrotermal aplicado a la fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos [Internet] [Tesis de Máster. Química sostenible]. [Valencia, España]: Universitat Politècnica de València; 2013 [citado el 28 de enero de 2022]. Disponible en: <https://riunet.upv.es/handle/10251/30137>
 101. Rössel-Kipping D. Proceso de carbonización hidrotérmica para incrementar la transportabilidad de la biomasa vegetal. *Agroproductividad.* el 5 de diciembre de 2018;11(11):3–9.
 102. Sevilla M, Fuertes AB. The production of carbon materials by hydrothermal carbonization of cellulose. *Carbon.* el 1 de agosto de 2009;47(9):2281–9.
 103. González J. Tratamientos termoquímicos para valorización energética de residuos biomásicos: viabilidad técnica y comparativa económica [Tesis Doctoral]. [León, España]: Universidad de León. Instituto de Medio Ambiente, Recursos Naturales y Biodiversidad; 2021.
 104. Xiao LP, Shi ZJ, Xu F, Sun RC. Hydrothermal carbonization of lignocellulosic biomass. *Bioresour Technol.* el 1 de agosto de 2012;118:619–23.

105. Gimenez M, Rodríguez M, Montoro L, Sardella F, Rodríguez-Gutierrez G, Monetta P, et al. Two phase olive mill waste valorization. Hydrochar production and phenols extraction by hydrothermal carbonization. *Biomass Bioenerg.* el 1 de diciembre de 2020;143:105875.
106. Scalbert A, Monties B, Janin G. Tannins in Wood: Comparison of Different Estimation Methods. *J Agric Food Chem.* el 1 de septiembre de 1989;37(5):1324–9.
107. Porter LJ. Flavans and proanthocyanidins. En: Harborne JB, editor. *The Flavonoids: Advances in Research since 1986* [Internet]. London, UK: Chapman and Hall; 1996 [citado el 29 de enero de 2022]. p. 23–55. Disponible en: https://doi.org/10.1007/978-1-4899-2913-6_2
108. García-Pérez ME, Royer M, Duque-Fernandez A, Diouf PN, Stevanovic T, Pouliot R. Antioxidant, toxicological and antiproliferative properties of Canadian polyphenolic extracts on normal and psoriatic keratinocytes. *J Ethnopharmacol.* el 28 de octubre de 2010;132(1):251–8.
109. Brighente IMC, Dias M, Verdi LG, Pizzolatti MG. Antioxidant Activity and Total Phenolic Content of Some Brazilian Species. *Pharm Biol.* el 1 de enero de 2007;45(2):156–61.
110. Valencia-Avilés E, Ignacio-Figueroa I, Sosa-Martínez E, Bartolomé-Camacho MC, Martínez-Flores E, García-Pérez ME. Polifenoles: propiedades antioxidantes y toxicológicas. *Revista de la Facultad de Ciencias Químicas.* 2017;(16):15.
111. Nishikimi M, Appaji Rao N, Yagi K. The occurrence of superoxide anion in the reaction of reduced phenazine methosulfate and molecular oxygen. *Biochem Biophys Res Commun.* el 31 de enero de 1972;46(2):849–54.

112. Smirnoff N, Cumbes QJ. Hydroxyl radical scavenging activity of compatible solutes. *Phytochemistry*. el 1 de enero de 1989;28(4):1057–60.
113. Ruch RJ, Cheng SJ, Klaunig JE. Prevention of cytotoxicity and inhibition of intercellular communication by antioxidant catechins isolated from Chinese green tea. *Carcinogenesis*. junio de 1989;10(6):1003–8.
114. Sreejayan N, Rao MN. Nitric oxide scavenging by curcuminoids. *J Pharm Pharmacol*. enero de 1997;49(1):105–7.
115. Marini A, Grether-Beck S, Jaenicke T, Weber M, Burki C, Formann P, et al. Pycnogenol® effects on skin elasticity and hydration coincide with increased gene expressions of collagen type I and hyaluronic acid synthase in women. *Skin Pharmacol Physiol*. 2012;25(2):86–92.
116. Ju HJ, Lee SA, Kim RH, Park BD, Kim GN. Evaluation of *Curcuma longa* L. Water Extracts as Beauty Food Materials in B16F10 and Human Skin Fibroblasts. *Asian J Beauty Cosmetol*. el 30 de junio de 2017;15(2):214–22.
117. Trujillo-Mayol I, Céspedes-Acuña C, Silva FL, Alarcón-Enos J. Improvement of the polyphenol extraction from avocado peel by assisted ultrasound and microwaves. *J Food Process Eng*. 2019;42(6):e13197.
118. Pruksakit W, Patumsawad S. Hydrothermal Carbonization (HTC) of Sugarcane Stranded: Effect of Operation Condition to Hydrochar Production. *Energy Procedia*. el 1 de noviembre de 2016;100:223–6.
119. Yang Yu, Bowadt Soren, Hawthorne SB, Miller DJ. Subcritical Water Extraction of Polychlorinated Biphenyls from Soil and Sediment. *Anal Chem*. el 15 de diciembre de 1995;67(24):4571–6.

120. Aida TM, Sato Y, Watanabe M, Tajima K, Nonaka T, Hattori H, et al. Dehydration of d-glucose in high temperature water at pressures up to 80MPa. *J Supercrit Fluids*. el 1 de abril de 2007;40(3):381–8.
121. Falco C, Perez Caballero F, Babonneau F, Gervais C, Laurent G, Titirici MM, et al. Hydrothermal carbon from biomass: structural differences between hydrothermal and pyrolyzed carbons via ¹³C solid state NMR. *Langmuir*. el 6 de diciembre de 2011;27(23):14460–71.
122. Catallo W, Shupe T, Comeaux J, Junk T. Transformation of glucose to volatile and semi-volatile products in hydrothermal (HT) systems. *Biomass Bioenerg*. el 31 de enero de 2010;34:1–13.
123. Biller P, Ross AB. Potential yields and properties of oil from the hydrothermal liquefaction of microalgae with different biochemical content. *Bioresour Technol*. el 1 de enero de 2011;102(1):215–25.
124. Wikberg H, Ohra-aho T, Pileidis F, Titirici MM. Structural and Morphological Changes in Kraft Lignin during Hydrothermal Carbonization. *ACS Sustainable Chem Eng*. el 2 de noviembre de 2015;3(11):2737–45.
125. Rodríguez-Meizoso I, Marin FR, Herrero M, Señorans FJ, Reglero G, Cifuentes A, et al. Subcritical water extraction of nutraceuticals with antioxidant activity from oregano. Chemical and functional characterization. *J Pharm Biomed Anal*. el 28 de agosto de 2006;41(5):1560–5.
126. Basile A, Jiménez-Carmona MM, Clifford AA. Extraction of Rosemary by Superheated Water. *J Agric Food Chem*. el 1 de diciembre de 1998;46(12):5205–9.
127. Morais DR, Rotta EM, Sargi SC, Schmidt EM, Bonafe EG, Eberlin MN, et al. Antioxidant activity, phenolics and UPLC–ESI(–)–MS of extracts from different

- tropical fruits parts and processed peels. *Food Res Int.* el 1 de noviembre de 2015;77:392–9.
128. Becker R, Dorgerloh U, Paulke E, Mumme J, Nehls I. Hydrothermal Carbonization of Biomass: Major Organic Components of the Aqueous Phase. *Chem Eng Technol.* el 1 de marzo de 2014;
 129. Poerschmann J, Weiner B, Koehler R, Kopinke FD. Organic breakdown products resulting from hydrothermal carbonization of brewer's spent grain. *Chemosphere.* el 1 de julio de 2015;131:71–7.
 130. Abrahão Machado E, Ambrosano L, Lage R, Abdalla B, Da Costa A. Nutraceuticals for Healthy Skin Aging. En: *Nutrition and Functional Foods for Healthy Aging.* 2017. p. 273–81.
 131. Poljšak B, Dahmane R. Free Radicals and Extrinsic Skin Aging. *Dermatol Res Pract.* 2012;2012:135206.
 132. Valencia-Avilés E, García-Pérez ME, Garnica-Romo MG, Figueroa-Cárdenas JDD, Meléndez-Herrera E, Salgado-Garciglia R, et al. Antioxidant Properties of Polyphenolic Extracts from *Quercus Laurina*, *Quercus Crassifolia*, and *Quercus Scytophylla* Bark. *Antioxidants.* julio de 2018;7(7):81.
 133. Chu KO, Chan SO, Pang CP, Wang CC. Pro-oxidative and Antioxidative Controls and Signaling Modification of Polyphenolic Phytochemicals: Contribution to Health Promotion and Disease Prevention? *J Agric Food Chem.* el 7 de mayo de 2014;62(18):4026–38.
 134. He X, Guo X, Ma Z, Li Y, Kang J, Zhang G, et al. Grape seed proanthocyanidins protect PC12 cells from hydrogen peroxide-induced damage via the PI3K/AKT signaling pathway. *Neurosci Lett.* el 17 de abril de 2021;750:135793.

135. Vanzani P, Rossetto M, Rigo A, Vrhovsek U, Mattivi F, D'Amato E, et al. Major phytochemicals in apple cultivars: contribution to peroxyl radical trapping efficiency. *J Agric Food Chem.* el 4 de mayo de 2005;53(9):3377–82.
136. Dugas AJ, Castañeda-Acosta J, Bonin GC, Price KL, Fischer NH, Winston GW. Evaluation of the total peroxyl radical-scavenging capacity of flavonoids: structure-activity relationships. *J Nat Prod.* marzo de 2000;63(3):327–31.
137. Galati G, Chan T, Wu B, O'Brien PJ. Glutathione-dependent generation of reactive oxygen species by the peroxidase-catalyzed redox cycling of flavonoids. *Chem Res Toxicol.* junio de 1999;12(6):521–5.
138. Srianthie D, Udayangani DN, Chamari H. Antioxidant, Antibacterial and Anti-Inflammatory Potential of the Aqueous Extract of the Raw Leaves of Sri Lankan Variety of *Persea Americana* Miller (Avocado). *Int J Ayurveda Pharma Res.* el 2 de abril de 2020;8(3):1–11.
139. Kingne-Kingne F, Doungue-Tsafack H, Teboukeu-Boungo G, Mboukap-Ntongme A, Elsa E, Edie-Kinge E, et al. Phenolic Content and Antioxidant Activity of Young and Mature Mango (*Mangifera indica*) and Avocado (*Persea americana*) Leaves Extracts. *J Food Stab.* el 23 de diciembre de 2018;1(1):14–27.
140. Cals-Grierson MM, Ormerod AD. Nitric oxide function in the skin. *Nitric Oxide-Biol Chem.* junio de 2004;10(4):179–93.