

## ELABORACIÓN DE UNA BEBIDA POTENCIALMENTE FUNCIONAL A PARTIR DE LA HOJA DE AGUACATE (*Persea americana*).

**Autores:** Dairon Iglesias Guevara\*, José A. Arencibia, Danae Pérez Santana, Juan Abreu Payrol. Instituto de Farmacia y Alimentos, Universidad de La Habana, Calle 222 No. 2317, CP 13600. La Habana, Cuba. \*Tel.: +53 7 2716389; fax: +53 7 2603894 y E-mail: [diguevara@estudiantes.ifal.uh.cu](mailto:diguevara@estudiantes.ifal.uh.cu)

### RESUMEN

El uso de plantas medicinales en el desarrollo de formulaciones en el mundo de los alimentos resulta cada vez más frecuente, ya que metabolitos tales como polifenoles, flavonoides, antocianinas, saponinas; entre otros, las hacen fuente de interés para el desarrollo de ingredientes bioactivos. El presente estudio propone la formulación de una bebida con potencialidades funcionales. Para esto se mezcló un extracto acuoso elaborado a partir de la hoja de aguacate (*P. americana*) y jugo de tamarindo (*Tamarindus indica*) (60-40%). El material vegetal utilizado fue sometido a algunos indicadores físico-químicos de calidad; tales como cenizas totales, cenizas solubles en agua e insolubles en ácido, así como la humedad residual y sustancias solubles. Luego se realizó un tamizaje fitoquímico con el objetivo de identificar la posible presencia en la droga cruda de alguno de los metabolitos secundarios antes mencionados. La bebida elaborada fue sometida a una prueba de nivel de agrado (escala hedónica de 5 puntos). Se establecieron algunos indicadores químico-físicos en la bebida tales como: pH, acidez, densidad, humedad y sólidos totales. Los parámetros de calidad de la droga estuvieron en correspondencia con lo reportado por la literatura y el tamizaje fitoquímico arrojó la presencia de importantes metabolitos, como los compuestos fenólicos (flavonoides). La bebida presentó un nivel de agrado por parte de los consumidores correspondiente a la clasificación de “me gusta”, con un color ámbar más oscuro que el que presentó el extracto de planta utilizado, conservándose en gran medida los atributos sensoriales del jugo de tamarindo. La formulación utilizada mostró un alto contenido de polifenoles. Estos resultados demuestran la posibilidad de usar la decocción de hojas de aguacate (*P. americana*) en otra matriz alimentaria.

**Palabras clave:** *Persea americana*, hojas, bebida funcional, *tamarindus indica*, polifenoles.

## PREPARATION OF A POTENTIALLY FUNCTIONAL DRINK FROM LEAVES OF AVOCADO (*Persea americana*).

### ABSTRACT

The use of medicinal plants in the formulations development in food's world turns out to be more and more interesting. Many phytocompounds, like flavonoids, anthocyanins, saponins, essential oils;

between others, provide antimicrobial, antioxidant, anti-inflammatory, hypotensive activity, etc. what allows the incorporation of numerous vegetable extracts in food matrix; supporting his sensory qualities, but improving evidently his impact in the health. The present work proposes a formulation using a aqueous extract prepared from leaves of avocado (*P. americana*) and a juice of tamarind (60-40 %) (*Tamarindus indica*) with food purposes that, although it is used in the traditional medicine as infusion to relieve some ailments, do not bring uses from this perspective; functional food. There are informed the results of some chemical-physical parameters of the crude drug, which were in correspondencel with reports ught for the specializing literature. Also a phytochemical screening was realized throwing the presence of important secondary metabolites. The drink presented an acceptability for consumers corresponding to the classification of “I like”, with a color amber darker than that it presented by the used plant extract, surviving to a great extent the sensory attributes of the used juice of fruit. Some such chemical-physical parameters were established in the drink as: pH, acidity, density, moisture and total solids. The used formulation show a high content of polyphenols, demonstrating the possibility of using the decoction of leaves of avocado (*P. americana*) in another food matrix as a possible preventive alternative of numerous complaints.

**Keywords:** Persea americana, avocado, leaves, functional drink.

## INTRODUCCIÓN

No existe consenso en la comunidad científica del término “alimentos funcionales” (AF). Se puede considerar que un AF es aquel que contiene un componente, nutriente o no nutriente, con actividad selectiva relacionada con una o varias funciones del organismo, con un efecto fisiológico añadido por encima de su valor nutricional y cuyas acciones positivas justifican que pueda reivindicarse su carácter funcional o saludable. Como puede apreciarse, las fronteras son difusas; tanto con los medicamentos como con casi cualquier alimento, en el más amplio de los sentidos (Silveira y col, 2003).

El uso de plantas medicinales en el desarrollo de formulaciones en el mundo de los alimentos resulta cada vez más interesante. Muchos metabolitos como flavonoides, antocianinas, saponinas, aceites esenciales; entre otros, proporcionan actividad antimicrobiana, antioxidante, antiinflamatoria, hipotensora, etc., lo que permite la incorporación de numerosos extractos vegetales en matrices alimentarias; manteniendo sus cualidades sensoriales, pero mejorando notoriamente su impacto en la salud.

Persea americana (*P. americana*), conocida vulgarmente como aguacate o palta, es una especie del género *Persea* perteneciente a la familia *Lauracea*, originaria de Mesoamérica, es cultivable fundamentalmente en regiones de climas tropicales (Chen y col, 2008).

Son árboles de 15-20 m de altura, o árboles cultivados de porte bajo con raíces poco profundas; hojas simples, alternas; lámina elíptica, aovada, obovada-oblonga, 10-30 cm de largo, 6-16 cm de ancho. Ápice abruptamente acuminado a redondeado, base obtusa; lámina de consistencia coriácea, glabra por la cara superior y suavemente pubescente por la cara inferior, venación prominente; peciolo 1,5-2 cm de largo. Inflorescencias panículas axilares, con pedúnculos y pedicelos verde amarillentos, flores muy numerosas, de 6-7 mm de longitud, fragantes, perfectas; perianto sin pétalos, cáliz 6 sépalos en dos verticilos; estambres 9,6 exteriores de 2,5-3 mm de longitud, 3 internos más largos, planos y con dos nectarios de color anaranjado en la base, anteras dehiscentes por 4 valvas pequeñas; presencia de un estaminodio amarillo y prominente; ovario súpero, ovoide, pubescente, estilo corto, hirsuto, estigma simple. Fruto drupa carnosa, verde-amarillenta, piriforme o globosa, exteriormente lisa o rugosa, de 7-10 cm de longitud; semillas largas, con embrión recto (Williams, 1977).

Son numerosos los estudios realizados que demuestran la actividad biológica de mucho de los metabolitos presentes en la hoja de aguacate, dado fundamentalmente por su alto contenido en flavonoides:

- Antidiabética: empleo de extractos hidroalcohólicos en la activación de la proteína quinasa B (PKB/Akt) en ratas diabéticas inducidas por estreptozotocina (Lima y col, 2012).
- Citotóxica: evaluación del aceite esencial contra células de melanoma M14 (Moriarty y col, 2007).
- Antibacteriano: determinación de la concentración mínima de inhibición (CMI) de *Helicobacter pylori* ATCC 43504 por extractos metanólicos (Castillo y col, 2009).
- Analgésica y antiinflamatoria: prueba de dolor de formalina en ratones e inhibición de la dosis de edema de pata de rata inducido por carragenina. Extracto acuoso (Adeyemi y col, 2002).
- Hipoglicémica: empleo de extractos acuosos en ratas albinas Wistar hiperglicémicas inducidas por BHD (Okokon y col, 2005).
- Hipotensora: extractos metanólico y acuosos en ratas machos Sprague Dawley normotensivas anestesiadas (Adeboye y col., 1999).

-Vaso relajante de la aorta torácica de ratas Sprague–Dawley: extracto acuoso de hojas en obtenido por hidrodestilación (Owolabi y col, 2005).

Teniendo en cuenta los planteamientos señalados, el siguiente trabajo propone la elaboración de una bebida analcohólica mezclando un extracto acuoso de hoja de aguacate con jugo de tamarindo; que promueva el uso de la decocción de las hojas de aguacate y la diversificación de uso alimentario, como fuente importante de metabolitos de alta actividad biológica.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Material vegetal:** Las hojas utilizadas en el presente trabajo fueron tomadas de una de las plantas que se localizan en las áreas del Instituto de Farmacia y Alimentos (IFAL) de la Universidad de la Habana, municipio La Lisa, provincia La Habana, durante el mes de marzo del año 2017. Del material colectado se seleccionaron aquellas hojas que de manera general presentaron las mismas características en cuanto a estado vegetativo, tamaño, color y ausencia de manchas, grietas, alteraciones morfológicas visibles e infestadas por hongos y parásitos. Las hojas fueron cortadas y secadas en estufa a 40 °C durante 7 días, luego de secadas se molieron en un molino artesanal y tamizó con un tamiz de <5mm.

**Parámetros físico-químicos de calidad determinados al material vegetal:** Los ensayos se realizaron según la metodología descrita por la NRSP 309 (1992) y Miranda y Cuéllar (2000): humedad residual (método azeotrópico), contenido de sustancias solubles o extraíbles (mezclas hidroalcohólicas al 50, 90 % y agua), cenizas totales, cenizas solubles en agua, cenizas insolubles en ácido clorhídrico al 10 %.

**Identificación de metabolitos secundarios:** Para esto se realizó el tamizaje fitoquímico al extracto etéreo, alcohólico y acuoso, según NRSP 309 (1992) y Miranda y Cuéllar (2000).

**Preparación del extracto:** Para la elaboración del extracto a utilizar en la formulación de la bebida, se pesaron 3 g de droga seca y se mezclaron con 100 mL de agua hirviendo, se agitó por 15 minutos, enfrió a temperatura ambiente y filtró por gravedad con papel de filtro. Al extracto obtenido se le determinaron los sólidos totales y características organolépticas según la norma cubana NRSP 312 (1992), Miranda y Cuéllar (2000).

**Preparación del jugo de tamarindo:** El fruto del tamarindo utilizado fue sometido a un proceso de limpieza con el fin de remover la suciedad de la cáscara; se secó el exceso de humedad y retiró la cáscara del mismo. Al finalizar la remoción se pesaron 60 g de tamarindo y se midieron 250 mL de agua, esta cantidad de agua con relación al tamarindo es la adecuada para obtener un jugo en el que

se perciba su sabor característico (Domínguez y Pereira, 2017). Luego fue sometido a un proceso de calentamiento a 70 °C por 5 minutos con el fin de mejorar el proceso de extracción de la pulpa.

**Formulación de la bebida:** Para la elaboración de la bebida, a nivel de laboratorio se determinó la formulación que sería sometida al análisis de aceptabilidad.

*Porcentaje de jugo y extracto empleado.*

Jugo de Tamarindo	Extracto
40	60

La bebida fue endulzada con azúcar blanco refino a razón 9,5 g por cada 100 mL de esta.

#### **Análisis realizados a la bebida:**

- Se realizó el análisis de aceptabilidad utilizando 80 jueces consumidores entre los 19 y 23 años de edad (estudiantes del IFAL), con una escala hedónica de 5 puntos.
- Se determinó pH, acidez y densidad; según Zumbado (2006).
- La determinación del color se realizó mediante el método espectrofotométrico según las recomendaciones de la Comisión Internacional de la Iluminación (CIE, por sus siglas en francés) (CIE, 1971). Se utilizó un espectrofotómetro UV-VIS (Rayleigh UV-1601, Beijing) para obtener el espectro de transmitancia en la región visible entre 400 y 700 nm. Se realizó la transformación al espacio uniforme CIE  $L^*$   $a^*$   $b^*$ , y se calcularon la luminosidad representada por  $L^*$  y los componentes del matiz por los valores  $a^*$  y  $b^*$  y cromaticidad ( $C^*$ ). Se empleó el iluminante  $D_{65}$  y un ángulo visual del observador normal de 10° (CIE LAB, 1978).
- Contenido total de polifenoles por el método de Folin-Ciocalteu (Singleton y col, 1999; Memnune y col., 2009; Chlopicka y col., 2012).

## **RESULTADOS**

En la tabla 1 se muestran de los indicadores físicos-químicos evaluados en el material vegetal (hojas secas de *P. americana*).

**Tabla 1** Indicadores físico-químicos de la droga cruda de *P. americana*.

Parámetros	N	(%) Media	Desviación estándar
Humedad	5	7,60	0,031
Cenizas	10	6,24	0,026
Cenizas Solubles en Agua	5	2,98	0,022
Cenizas Insolubles en HCl	5	0,35	0,037
Sustancias solubles en agua	5	25,05	0,039
Sustancias solubles en etanol 50%	5	29,16	0,012
Sustancias solubles en etanol 90%	5	17,82	0,005

**Leyenda.** N /número de muestras evaluadas

La Tabla 2 muestra la identificación cualitativa de los metabolitos presentes en la droga cruda de hojas de aguacate mediante tres extracciones con disolventes de polaridad creciente (éter de petróleo, etanol 90 % (v/v) y agua destilada). Se aprecia la alta variabilidad de compuestos presentes en esta droga, entre los que se destacan los fenoles, flavonoides, alcaloides, azúcares reductores, saponinas, triterpenos, esteroides y quinonas. Resultando el extracto acuoso ser uno de los más ricos en flavonoides; al identificarse una intensa coloración amarilla.

**Tabla 2.** Perfil fitoquímico de la droga cruda de hoja de aguacate.

Extractos				
Ensayo	Metabolito	Etéreo	Alcohólico	Acuoso
Sudan	Compuestos grasos	+		
Dragendorff	Alcaloides	-	+++	+++
Baljet	Agrupamiento lactónicos	-	++	
Liberman.B	Triterpenos / esteroides	+	-	
Catequinas	Catequinas		+	
Resinas	Resinas		-	
Fehling	Azúcares reductores		++	+

Espuma	Saponinas		-	++
Cloruro de Fe	Compuestos fenólicos		++	+++
Nihidrina	Aminoácidos libres		-	
Boritrager	Quinonas benzoquino		+++	
Shinoda	Flavonoides		+++	+++
Kedde	Glucósidos cardiotónicos		-	
Antocianina	Antocianinas		+-	
Mucílagos	Mucílagos			+
Principios amargos	Principios amargos			+

**Leyenda.** +: Presencia. ±: Regular. -: Ausencia.

La infusión elaborada a partir del material vegetal presentó un contenido de sólidos totales de 11 %. Desde el punto de vista organoléptico el extracto fluido se presentó como un líquido traslúcido de color ámbar claro y olor característico.

La formulación de la bebida empleada arrojó los siguientes resultados.

**Tabla 3.** Resultados de los indicadores físico-químicos de la bebida

Indicadores	N	Media	Desviación estándar
pH	3	2,57	0,04
Acidez total (%)	3	5,22	0,10
Densidad (g/ml)	3	1,0412	0,03
Humedad (%)	3	86,66	0,21
Sólidos Totales (%)	3	13,34	0,02

**Leyenda.** N /número de muestras evaluadas

A continuación, presentamos los resultados estadísticos obtenidos de la evaluación sensorial donde se determina el nivel de agrado de la bebida (escala hedónica de 5 puntos), en la cual se utilizaron 80

juices consumidores entre los 19 y 23 años de edad, de los cuales un 29 % correspondió al sexo masculino y el restante 71 % al femenino.

**Tabla 4.** Resultados de la evaluación sensorial

Escala	Puntos asignados	Total de personas	Puntos acumulados
Me gusta mucho	5	51	255
Me gusta	4	20	80
Ni me gusta ni me disgusta	3	8	24
Me disgusta	2	1	2
Me disgusta mucho	1	0	0
	Total	80	361

Del análisis de los resultados recopilados de la prueba de aceptación se encontró un promedio de 4.513 el cual corresponde a la clasificación me gusta. También se tuvieron varias observaciones, pues el 10 % de los encuestados alegaron que no les gustaba mucho el jugo de tamarindo sin embargo les había gustado la bebida. Mientras que otros, más acostumbrados al consumo del jugo de tamarindo (4%), deseaban mayor intensidad de sabor a tamarindo.

La Tabla 5 muestra las características de la bebida elaborada en cuanto al color y el contenido total de polifenoles. El color de la bebida tuvo ciertas semejanzas con las del extracto utilizado, aunque por supuesto debido al jugo de tamarindo que posee una coloración más carmelita, tuvo una mayor oscuridad. El contenido total de polifenoles realizado por el método de Folin-Ciocalteu demostró la existencia de un alto contenido de los mismos, siendo de 575,067 mg/ g de extracto, medidos como ácido gálico. A continuación, se muestran los resultados estadísticos.



**Tabla 5.** Coordenadas del color en el espacio CIELAB y contenido total de polifenoles

Indicadores	N	Media	Desviación estándar
Polifenoles	3	575,067	1,527
L*	2	63,42	0,032
a*	2	13,32	0,123
b*	2	56,38	0,020

**Leyenda.** N/ núm

## DISCUSIÓN

En el estudio de los parámetros físico-químicos de calidad efectuados a la droga cruda de hojas de *P. americana*, el contenido de humedad residual estuvo ligeramente por debajo del límite permitido (entre 8 y 14 %) (Miranda y Cuéllar, 2001), por lo que se demostró la eficiencia del proceso de secado en estufa a 40 °C. Los resultados revelan que se obtiene mayor rendimiento de sustancias extraíbles para la mezcla hidroalcohólica al 50 % en segundo lugar el agua y el menor porcentaje se obtuvo para el etanol al 90%. El comportamiento anterior indica que el proceso extractivo se ve favorecido por un disolvente polar como el agua, aunque no en su estado puro pues el etanol en mezcla, favoreció en parte el proceso extractivo. El tamizaje fitoquímico reveló que la composición química cualitativa es semejante en los dos extractos de mayor rendimiento, ambos con una alta presencia de compuesto fenólicos.

Las Farmacopeas plantean un índice de cenizas totales hasta el 5 % (Lou-Zhi-cen, 1980; WHO 1998). En el presente estudio el valor de 6,24 % se encuentra ligeramente superior al límite exigido, lo cual pudiera ser atribuido al lugar de recolección, las características del suelo, la disponibilidad de nutrientes absorbidos por parte de la planta, que puede variar para favorecer uno u otro proceso metabólico, dependiendo esto, entonces del momento en que se efectúe la recolección. Otros parámetros que ayudan a evaluar pureza de la droga son las cenizas solubles en agua y las insolubles en ácido clorhídrico al 10 %. Al analizar los resultados, se pudo evidenciar que en ambas determinaciones los valores estuvieron por debajo del máximo permisible (aproximadamente 2 % para plantas medicinales, Lou- Zhi-cen, 1980; WHO 1998). Por consiguiente, es posible adelantar que el valor ligeramente alto de las cenizas totales no está asociado a la presencia de metales pesados potencialmente tóxicos en cantidades inadmisibles.

De los parámetros químico-físicos realizados a la bebida, el pH estuvo por debajo de lo reportado por Domínguez y cols. en 2017, en la elaboración de una bebida a la que se había adicionado extracto de hoja de moringa, por lo cual es esta una de las principales fuentes de variación; en primer lugar, por el alto contenido de compuestos fenólicos presentes en el extracto realizado o simplemente factores que dependen de la fruta utilizada, como índice de maduración, clima, suelo, etc. Es necesario destacar que un porcentaje de los consumidores deseaba mayor intensidad del sabor a tamarindo en la bebida, sin embargo, el pH es bastante ácido, lo cual confirma el papel que juegan los polifenoles provenientes del material vegetal utilizado. La bebida conservó un color similar al del jugo de tamarindo, el color fue de un ámbar más oscuro que el del extracto utilizado.

El contenido de polifenoles fue alto, lo cual da indicios de que la bebida pudiera presentar algunos de los metabolitos antes analizados y a los que se hace referencia en el estudio de los modelos *in vitro* e *in vivo*, sobre todo de flavonoides, lo que está en consonancia con el tamizaje fitoquímico, pues la fracción acuosa dio positivo a flavonoides al mostrarse una intensa coloración amarilla. A pesar de usar una mezcla mayor al 50 % (extracto) en la formulación, se logró conservar los atributos sensoriales del jugo de tamarindo.

## CONCLUSIONES.

El presente estudio permitió establecer algunas especificaciones de calidad de la droga. Con la cual fue posible la formulación de una bebida con buena aceptabilidad por parte de los consumidores, conservándose en gran medida los atributos sensoriales del jugo de fruta utilizado. Se establecieron algunos parámetros químico-físicos en la bebida tales como: pH, acidez, densidad, humedad y sólidos totales. La formulación utilizada arrojó un alto contenido de polifenoles, demostrando la posibilidad de usar la decocción de hojas de aguacate (*P. americana*) en otra matriz alimentaria como una posible alternativa preventiva de numerosas afecciones.

## LITERATURA CITADA

1. Adeboye, J.O., Fajonyomia, M.O., Makinndeb.J.M., Taiwob, O.B. A preliminary study on the hypotensive activity of *Persea americana* leaf extracts in anaesthetized normotensive rats, 1999: Fitoterapia Vol. 70, págs. 15-20.
2. Adeyemi, O.O., Okpo, S.O. y Ogunti, O.O. Analgesic and anti-inflammatory effects of the aqueous extract of leaves of *Persea americana* Mill (Lauraceae), 2002: Fitoterapia, Vol. 73, págs. 375-380.

3. Castillo, I., González, V., Jaime-Aguilar, H., Martínez, G., Linares, G., Romeros, I. Anti-*Helicobacter pylori* activity of plants used in Mexican traditional medicine for gastrointestinal disorders, 2009: *Journal of Ethnopharmacology*, Vol. 122, págs. 402-405.
4. Chen, H.; Morrell, P. L.; Ashworth, V. E. T. M.; De La Cruz, M.; Clegg, M. T. Tracing the Geographic Origins of Major Avocado Cultivars, 2008: *Journal of Heredity*, Vol.1, págs. 56-65.
5. Chlopicka J, Pasko P, Gorinstein S, Jedryas A, Zagrodzki P. Total phenolic and total flavonoid content, antioxidant activity and sensory evaluation of pseudocereal breads, 20012: *LWT- Food Science and Technology*, Vol.46, págs.548-555.
6. CIE LAB. Commission International de l'Eclairage. (1978). Recommendations on uniform color spaces, color difference equations, psychometric color terms, Supplement No. 2 to CIE Publication No. 15, Colorimetry, Bureau Central de la CIE, Paris, France.
7. CIE. International Commission on Illumination. (1971). *Colorimetry: Official Recommendations of the International Commission on Illumination*. Bureau Central de la CIE, París, Francia.
8. Domínguez A. Formulación y métodos de conservación de una bebida a partir de la hoja de teberinto (*Moringa oleifera*). Tesis en opción al título de Ingeniero Químico. Universidad del Salvador, 2017.
9. Lima, C.R., Vasconcelos C.F., Costa-Silva J.H., Maranhão C.A., Costa J., Batista T.M., Carneiro E.M., Soares L.A.L., Ferreira F., Wanderley A.G. Anti-diabetic activity of extract from *Persea americana* Mill. leaf via the activation of protein kinase B (PKB/Akt) in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology* 2012: Vol. 141:1, págs. 517-525.
10. Lou Zhi-cen. General control methods for vegetable drugs. Comparative study of methods included in thirteen pharmacopoeias and proposals on their international unification. WHO/PHARM/80.502, 1980:8-39.
11. Memnune S, Hilal Y, Neva G, Bulent C, Zeynep E and Sezai E. Total phenolic content, antioxidant and antimicrobial activities of some medicinal plants, 2009: *Pak. J. Pharm. Sci*, Vol.22, págs. 102-106.
12. Miranda MM., Cuéllar AC. Manual de prácticas de laboratorio. Farmacognosia y productos naturales. Ciudad Habana, 2000:25-49, 74-79.
13. Moriarity, D.M., y col. Selective cytotoxic activities of leaf essential oils from Monteverde, Costa Rica, 2007: *Natural Product Communications*, Vol. 2, págs. 1263-1268.
14. NRSP 309. Norma Ramal. Medicamentos de origen vegetal. Droga cruda. Métodos de ensayo, 1992:16-29.
15. NRSP 312. Norma Ramal. Medicamentos de origen vegetal. Extractos fluidos y tinturas. Métodos de ensayo, 1992:15-19.

16. Ojewole, J.,y col. Cardiovascular effects of *Persea americana* Mill (Lauraceae) (avocado) aqueous leaf extract in experimental animals, 2007: Cardiovascular Journal of South Africa, Vol. 18, págs. 69-76.
17. Okokon, J.E., Anita, B.S. y Okon, P.A. Indian J Pharmacol. Hypoglycemic activity of aqueous *Persea americana* Mill, 2005: Indan J Pharmacol, Vol. 37, págs. 325-326.
18. Owolabi, M.A., Jaja, S.I. y Coker, H.A.B. Vasorelaxant action of aqueous extract of the leaves of *Persea americana* on isolated thoracic rat aorta, 2005: Fitoterapia, Vol. 76, págs. 567-573.
19. Silveira M., Monereo S., Molina B. Alimentos funcionales y nutrición óptima. ¿cerca o lejos?, 2003: Rev. Esp. Salud Publica, Vol.77, pág.2.
20. Singleton VL., Orthofor, R y lamuela-Raventos, RM. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent, 1999: Methods in enzymology , Vol.299, págs.152-178.
21. WHO. World Health Organization. Quality control methods for medicinal plant materials. WHO/PHARM/92.559. Ginebra, 1998.
22. Willlams, Louis O. "The Avocados, a Synopsis of Genus *Persea*. subg. *Perseo*", 1977: Economic Botany, Vol. 31, págs. 315-320.
23. Zumbado H. Análisis Químico de los alimentos, Métodos Clásicos. Ed. Félix Varela, La Habana, 2006.