



2 300627  
2ej'  
**UNIVERSIDAD LA SALLE**

**ESCUELA DE QUIMICA**  
**INCORPORADA A LA U. N. A. M.**

**"PROCESO ENZIMATICO PARA LA EXTRACCION  
DE ACEITE DE AGUACATE"**

**TESIS PROFESIONAL**

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:**

**QUIMICO FARMACEUTICO BILOGO**

**P R E S E N T A:**

**MARGARITA E. BUENROSTRO MARTINEZ**



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## " I N D I C E "

CAPITULO	CONTENIDO	PAGINA
I	INTRODUCCION	1
II	GENERALIDADES	6
	II.a Generalidades sobre el aguacate	7
	II.b Datos estadísticos	8
	II.c Comercialización	11
	II.d Composición	11
	II.e Aplicaciones Indus- triales.	17
	II.f Extracción de aceites de aguacate.	21
	II.g Enzimas.	22
III	MÉTODOS Y MATERIALES	33
IV	RESULTADOS	36
V	CONCLUSIONES	49
VI	BIBLIOGRAFIA	51

## CAPITULO I

### INTRODUCCION

Las grasas y los aceites son nutrimentos fundamentales en la dieta de los animales ya que representan la forma más concentrada de calorías en los alimentos. Además de su valor nutritivo los lípidos contribuyen en muchos aspectos a la textura de los alimentos, sirven como vehículo de las vitaminas liposolubles e influyen en el sabor de varios productos alimenticios. Las grasas son muy pobres conductores del calor y por ello el tejido adiposo sirve como aislante natural en los animales.

Así las principales fuentes de aceites y grasas son los tejidos animales y las semillas oleaginosas, ya que los frutos y los vegetales contienen en general muy bajas concentraciones, aunque existan excepciones como el aguacate, las aceitunas y algunos tipos de nueces, que tienen un promedio de 20 % de lípidos. (5)

Las grasas y aceites son compuestos de origen animal y vegetal que constan principalmente de ésteres del propanotriol, glicerol o glicerina y ácidos grasos. Se designan como ésteres triglicéridos.

No hay una distinción clara entre los términos "grasa" y "aceite". La primera, generalmente, se aplica al compuesto en estado sólido mientras que, corrientemente, "aceite" se aplica a la forma líquida. La vaguedad de esta terminología queda en evidencia dado el hecho de que una grasa en una zona de temperatura templada, puede ser un aceite en una zona tropical. Los términos son empleados indistintamente a lo largo de este trabajo.

Las grasas naturales se caracterizan por:

- a) Ser insolubles en agua y solubles en la mayor parte de los disolventes orgánicos.
- b) Tener pesos específicos menores que el del agua.
- c) Ser fácilmente saponificables con álcali.

Además de los triglicéridos, las grasas naturales contienen ciertos constituyentes no glicéridos que, en su mayoría, son insaponificables. Esta porción insaponificable consta de esteroides, hi

drocarburos, tocoferoles y otras materias que no se determinan o identifican. El contenido insaponificable de la mayor parte de las grasas naturales oscilan normalmente entre el 0.5 y el 2.6 %, aunque hay algunas excepciones, particularmente en el caso de los aceites de animales marinos. (5)

Los triglicéridos que constituyen la fracción mayor de todas las grasas y aceites naturales se clasifican en simples y mixtos, dependiendo de su composición. Un triglicérido simple es aquel que tiene idénticos los tres radicales de ácido graso. Los triglicéridos que no tienen iguales los radicales de ácido graso se denominan triglicéridos mixtos. Las grasas naturales han sido definidas como mezclas de triglicéridos mixtos, puesto que, en la naturaleza, la mayor parte de los triglicéridos se presentan como del tipo mixto.

Cada triglicérido que contiene dos o más radicales ácidos diferentes tiene distintas formas isoméricas posibles, dependiendo de la colocación de los ácidos grasos en la molécula del triglicérido. Dichos isómeros se nombran de acuerdo con los radicales ácidos específicos presentes y la posición relativa de estos radicales en la molécula. Las tres posiciones en el radical glicérido se designan como  $\alpha, \beta, \gamma$  o 1, 2 y 3 respectivamente.

Las grasas, junto con las proteínas y los carbohidratos, están ligadas íntimamente a los procesos vitales, principalmente a toda la materia orgánica animal y vegetal. Una cantidad considerable de grasa comestible se consume en su forma original, como la contenida en carnes, nueces, cereales, productos lácteos y de aves de corral, aunque también cantidades considerables son consumidas en forma de mantequillas, margarinas, grasas de freír, aceites comestibles y de cocina.

Las grasas no comestibles abarcan también una amplia industria, siendo empleadas en la fabricación de jabones, aceites secantes para la industria de pinturas y barnices, aceites industriales para la industria textil, aceites de corte y avances en los que las grasas se emplean como materia prima para la síntesis de una amplia va

riedad de nuevos productos cosmetológicos.

La extracción de la grasa, independientemente del origen de la materia prima implica tres operaciones posibles:

- 1.- Tratamiento preliminar de la muestra, incluyendo secado, molienda, digestión o cualquier combinación de éstos.
- 2.- Separación de la grasa por extracción con un solvente apropiado o por separación centrífuga.
- 3.- Purificación parcial o total y valoración de la grasa.

La finalidad del secado es reducir el contenido de humedad de la muestra, ya que el agua, en cantidades considerables, impide una extracción completa y eficiente si se emplea éter etílico o éter de petróleo como agente de extracción.

La molienda tiene como objeto el reducir el tamaño de partícula de la muestra, de forma tal que el solvente pueda penetrar en la misma fácil y completamente, al incrementarse el área de contacto.

Los distintos métodos que se emplean en la extracción de grasa o de aceites, pueden clasificarse de la siguiente manera:

- 1.- Frensado
- 2.- Extracción por solventes
- 3.- Combinación de los métodos anteriores.

El procedimiento de extracción de grasa de la materia original con solvente, evaporación de éste y determinación gravimétrica del residuo, es uno de los métodos más antiguos en el análisis de grasas. Se han llevado a cabo numerosas modificaciones de los distintos métodos de extracción, conforme se ha ganado experiencia en el conocimiento de los procesos.

Recientemente, de acuerdo con una línea de investigación desarrollada en el Departamento de Alimentos de la Dirección de Estudios de Posgrado de la Facultad de Química de la UNAM, (10) se propuso un sistema novedoso para la extracción de aceite de coco. En efecto, basándose en el hecho de la acción de las enzimas específicas producen la liberación del aceite de la estructura del vegetal se planteó el proceso en dos etapas: reacción enzimática de la mues-

tra diluida y centrifugación del producto de la reacción.

Es esencialmente en el marco de dicho trabajo, que se sitúa - en el presente proyecto, al tratar de extender dicho desarrollo, a una gran variedad de productos vegetales de contenido de grasa elevado.

#### OBJETIVO

El presente trabajo tiene como objeto principal aplicar un -- método diferente a los tradicionalmente empleados en extracción -- del aceite de aguacate a partir de la pulpa de este fruto. Se pretende extender y caracterizar la técnica desarrollada para aceite de coco, al aceite de aguacate para permitir una extracción eficiente e incrementar los rendimientos en la etapa de extracción.

El centro del proyecto se localiza en la reacción enzimática que permita la liberación de aceite.

## CAPITULO II

### GENERALIDADES

## II GENERALIDADES

La palabra "aguacate" proviene etimológicamente de "acacatl", término que los aztecas empleaban para designar este fruto. Bernardino de Sahagún fue el primero en dar constancia escrita al reportarlo en el año de 1570 en su obra "Historia de las Cosas de la Nueva España".

Los autores que le siguieron, lo denominaron como "ahuacatl" de la cual los españoles derivaron "ahuacate" y posteriormente "aguacate". Los nombres empleados en otras lenguas son por ejemplo en Portugués se escribe avocado, en Alemán advogato, en Holandés advocaar y avvocato en Inglés; éste último término ha sustituido al de aligatore pear, que ha quedado como nombre popular en las Antillas.

En varios países de América del Sur se utiliza preferentemente el nombre de "palta", también de origen indígena. El nombre científico con que se designa el aguacate cultivado en América es el de Persea Americana.

### IIa. GENERALIDADES SOBRE EL AGUACATE.

El fruto del aguacate crece en todas las regiones de clima tropical. Se encuentra difundido en muchos países, se conocen 600 variedades cultivables de Persea, sin embargo en algunas partes de Europa este fruto es prácticamente desconocido.

Desde que en Estados Unidos de Norteamérica se empezaron a extender los cultivos de aguacate, hace aproximadamente 35 años, este producto se ha venido haciendo más común en el mercado y se ha incrementado su consumo en las grandes ciudades.

El explorador Martín Fernández de Olasco lo descubrió durante su viaje a América del Sur en 1510 y lo mencionó en su libro "Suma de Geografía". Decía con respecto al aguacate: "lo que tiene dentro es como mantequilla y tiene un sabor delicioso que deja un paladar tan agradable que es una cosa maravillosa".

Actualmente se encuentran aguacates en todos los climas tropicales y subtropicales, siendo cultivado a escala comercial en México, Hawaii, Estados Unidos y Puerto Rico. De todas estas regiones, California, E. U. lleva la cabeza y es la única región en donde el aguacate es objeto de una explotación industrial para la extracción de su aceite.

Dentro de la gran cantidad de variedades se encuentran diversas formas, tamaños y colores. Se pueden presentar variedades en forma de globo, ovoide o piriforme; frutos pequeños y grandes, variedades de color morado oscuro, verde, verde salpicado de café, verde amarillento y carmesí oscuro; variedades con pulpa suave y cremosa, aunque también se pueden encontrar con pulpa consistente y poco o muy fibrosa.

Su fruto es de gran estima como comestible, especialmente en ensaladas, por su rico sabor y grata consistencia de su mesocarpio, así como por su alto contenido de proteínas.

Generalmente el árbol del aguacate cultivado en México puede alcanzar una altura de 10 a 15 metros; su copa de hojas gruesas y persistentes dá excelente sombra.

#### Iib. DATOS ESTADISTICOS.

En la República Mexicana la superficie total en cultivo de -- aguacate es aproximadamente de 36,810 Ha., ocupando Michoacán el -- lugar predominante con 14,500 Ha.

T A B L A I P R O D U C C I O N (11)

Estado Productor	% de producción
Michoacán	39
Veracruz	10
Puebla	8
Estado de México	8
Tamaulipas	5
Sinaloa	4
Chiapas	3
Jalisco	3
Guanajuato	2
Otros 19 estados del país	18

T A B L A    I I    ( 1 1 )

EPOCAS DE COSECHA POR VARIEDADES Y POR ZONAS DEL  
ESTADO DE MICHOACAN

VARIEDAD	ZONA	EPOCA
Criollo	Periban	Febrero-Julio
Criollo	Uruapan	Marzo-Junio
Criollo	Tacámbaro	Abril-Junio-Ago-Sep.
Fuerte	Peribán	Julio-Octubre
Fuerte	Uruapan	Julio-Noviembre
Fuerte	Tacámbaro	Septiembre-Diciembre
Hass	Peribán	Septiembre-Enero
Hass	Uruapan	Noviembre-Febrero
Hass	Tacámbaro	Diciembre-Marzo
Bacon	Tacámbaro	Septiembre-Diciembre
Zutano	Tacámbaro	Septiembre-Diciembre
Azteca	Tacámbaro	Septiembre-Diciembre

Las variedades más conocidas son Criollo, Hass, Fuerte, Bacon, Wurtz, Choquette, Booth-7, Booth-8, Zutano, Rincón, Reed, Jalna y Anaheim. Las tres primeras representan el 98.5% de la población total de árboles de aguacate del Estado de Michoacán. (11)

#### Iic. COMERCIALIZACION.

Los principales mercados hacia donde se canaliza la producción de aguacate del estado de Michoacán, están representados por la Ciudad de México y Monterrey, N. L., plazas que absorben la mayor parte de la producción de las variedades Hass, Fuerte y Criollo.

Los canales mayormente utilizados en la comercialización de la producción de aguacate en el Estado de Michoacán y que pueden ser considerados típicos para cualquier estado productor de aguacate, quedan definidos como:

- 1.- Comisionistas.- Por lo general son comerciantes establecidos en los principales centros de consumo del país y los cuales mediante una comisión venden el producto de la asociación o de los productores que representan a su mercado de influencia.
- 2.- Venta directa a comerciantes.- Estos los surte directamente la empacadora con base en los pedidos que con anticipación han realizado los comerciantes mayoristas o medio mayoristas de diversos centros de consumo.
- 3.- Venta directa en los centros de consumo.- Algunos productores o socios de empacadoras o sociedades cuentan con bodegas en los mercados más importantes del país donde realizan la venta de su producto a distintos niveles comerciales, lo que lógicamente, les permite mejores ingresos en su actividad.

#### IId. COMPOSICION.

El fruto de este árbol, es de gran valor tanto por su riqueza alimenticia como por la composición química misma.

La cantidad de aceite contenida en la pulpa del aguacate depende de la variedad, estado de madurez y condiciones climatológicas. El contenido de aceite en la fruta fresca varía de 4 a 18%.

(40)

La pulpa del aguacate se encuentra constituida principalmente por materias grasas así como por proteínas, elementos minerales, - azúcares, vitaminas, alcoholes alifáticos, alcoholes, terpénicos, esteroides y carotenoides. (9)

T A B L A III

COMPOSICION DE LOS INSAPONIFICABLES DEL ACEITE DE  
AGUACATE (19)\* base seca

PROCEDENCIA	HIDROCAR- BUROS %	ALCOHOLES ALIFATICOS %	ALCOHOLES TERPENILICOS %	ESTERO- LES %
AFRICA	5	8	40	40
AMERICANA I	15	25	15	42
AMERICANA II	5	5	15	70
ACEITE SIN REFINAR DE CALIFORNIA	20	3	30	45

T A B L A IV

DETERMINACION DE LOS ESTEROLES CONTENIDOS EN LOS INSAPONIFI-  
CABLES DEL ACEITE DE AGUACATE POR CROMATOGRAFIA DE GASES. (19)

\* base Seca

---

ESTEROLES	CANTIDADES %
DESCONOCIDO	1
COLESTEROL	3
CAMPESTEROL	6
SITOSTEROL	80
DESCONOCIDO	10

---

T A B L A V

ANALISIS DE LOS ACIDOS GRASOS PRESENTES EN EL ACEITE  
DE AGUACATE (1)

ACIDO GRASO	CANTIDAD %
PALMITICO	23.40
PALMITOLEICO	4.13
ESTEARICO	-
OLEICO	58.16
LINOLEICO	14.30
SATURADOS	23.40
NO SATURADOS	76.59

T A B L A VI

CONTENIDO DE VITAMINAS EN LA PULPA DEL AGUACATE (21)

VITAMINA	% mg
VITAMINA A	0.00
BETA CAROTENO	0.20
VITAMINA B <sub>1</sub>	0.08
VITAMINA B <sub>2</sub>	0.15
NICOTINAMIDA	1.00
VITAMINA C	3.00
VITAMINA E	1.00

### III. APLICACIONES INDUSTRIALES.

El fruto del aguacate tiene gran importancia, tanto por su aplicación en la industria de los alimentos como de los cosméticos.

El aguacate era muy conocido por los aztecas y por los indios de America del Sur y America Central mucho antes de la llegada de los conquistadores españoles. Estos nativos lo empleaban en su alimentación y como cosmético para preservar la cara contra los vientos secos. La leyenda cuenta que estos indígenas se lo aplicaban en el pelo para favorecer el crecimiento. (38) (39)

Debido a que el aguacate contiene cantidades apreciables de aceite con características tales como poder de penetración y facilidad para formar emulsiones muy finas que lo hacen atractivo principalmente a la industria de los cosméticos incluyendo los jabones de tocador.

Aplicaciones alimenticias.- El fruto del aguacate sirve como complemento de la comida; su sabor es parecido al de la mantequilla, delicado y nada dulce. Posee además un gran valor nutritivo y dietético por estar constituido por materias grasas y proteínas.

Dado su alto contenido en aceite, el fruto constituye una fuente nutritiva excelente, siendo su valor energético promedio de 157 calorías por 100 g. de pulpa.

La fácil digestión de su aceite lo coloca en una categoría muy superior a la de otros frutos. Por estas razones lo recomiendan como sustituto del aceite de hígado de bacalao en preparaciones farmacéuticas, aunque su contenido vitamínico es mucho menor.

Es aconsejable emplear estos aceites a temperaturas bajas para que las vitaminas termolábiles se preserven. Este aceite se considera rico en vitamina C. (9)

El fruto del aguacate es un alimento de uso común en México, Cuba, Brasil, Guatemala; recientemente se ha aumentado su consumo en Estados Unidos y Colombia, (11) etc. Aunque en Europa todavía no tiene esta categoría se espera en unos cuantos años aumentar su consumo.

Las hojas del aguacate son interesantes desde el punto de vista farmacológico y clínico. Investigaciones recientes han revelado la presencia de dos compuestos activos; un glucósido y un aceite esencial. Las pruebas biológicas realizadas con preparaciones de hojas de *Persea* en ratas blancas y topes han demostrado una acción diurética y purgante en grandes dosis; en cambio en algunos ratones ejercen una acción tóxica. (9)

Las pruebas clínicas realizadas por Calvino Mameli E. 1956 -- han demostrado que el ser humano tolera perfectamente el suministro de hojas de *Persea drymifolia*, siendo absolutamente inocuas. -- La infusión preparada con 10 g. de hojas secas produce un leve aumento de la diuresis y una modesta acción purgante. La inocuidad de las hojas de *Persea* se ha confirmado por el hecho de que en -- América Central no solamente la infusión sino también el cocimiento constituyen técnicas de uso común. Durante la última guerra -- mundial algunas personas de Iuguria y Piamonte consumieron grandes cantidades de hojas de *Persea* en sustitución del té que entonces era muy escaso y caro. El cocimiento es refrescante, de sabor agradable, parecido al anís. Sobre la toxicidad de las hojas, algunas revistas americanas relatan casos de mortalidad en conejos; sin embargo el profesor Calvino repitió varias veces este experimento con conejos y no lo pudo confirmar, ya que los conejos gustaban de las hojas tiernas y se alimentaban con ellas sin que esto les causara el menor daño. (9) El origen de la discordancia de información quizá se deba a que las diversas variedades han dado lugar a mutaciones químicas. En las hojas de la variedad fuerte se han encontrado alcaloides de constitución aún desconocida.

Aplicaciones Cosméticas.- El aceite extraído a partir de la pulpa del aguacate se emplea en la industria de los cosméticos desde 1930, por disminuir la tensión superficial de los fluidos, -- facilitar la emulsificación, así como por sus propiedades de penetración y absorción a través de la piel.

Tanto Fahrner Helmut 1953, como Schwob Roger 1951 lo consideran como uno de los aceites más penetrantes comparables con la la-

nolina; así mismo determinaron su aplicación en la elaboración de cremas de belleza, aceites para masajes, aceites para el cabello, jabones para tocador espumosos y preparaciones de gran penetración, ya que eliminan las espinillas y otros excemas de la piel.  
(20) (39)

Puhler Helmut lo empleó en la curación de enfermedades de la piel de tipo parasitario y excemas obteniendo resultados favorables, ya que disminuyó considerablemente la resequedad y la formación de escamas iniciándose la cicatrización.

El cosmólogo moderno debe conocer la necesidad de aplicar este aceite en la industria de los cosméticos en lugar de las ceras que tienen propiedades completamente pasivas.

En el Congreso Internacional de Estética y Cosmetología de Bruselas efectuado en 1956, Paolo Rovesti presentó el trabajo titulado "Extracción de Fracciones con Elevado Índice de Yodo Mediante Solventes Selectivos, para Aplicaciones Eudérmicas y Cutitróficas" investigación que le brindó el primer premio absoluto de estética y cosmetología. (34)

El Dr. Paolo Rovesti propone en el trabajo antes mencionado, el empleo de productos lipídicos o lipófilos que presenten una absorción cutánea rápida, eudérmica y eficaz. Los estudios realizados sobre los aceites de aguacate, avellana, lino, ricino, tortuga, hígado de bacalao desodorizado, entre otros, indican que los aceites con mayor cantidad de ácidos grasos no saturados son absorbidos en mayor proporción por la piel que aquellos constituidos casi totalmente por ácidos grasos saturados. Recientemente se ha llamado con el nombre genérico de vitamina F a los ácidos grasos no saturados esenciales. (34) La conservación de estos productos se ha logrado mediante el empleo de antioxidantes apropiados, evitando así el entreciamiento y la formación de peróxidos que resultan irritantes.

Por estas razones el Dr. Rovesti señaló la necesidad de extraer por un método simple y económico la fracción no saturada de los aceites con elevado índice de yodo. Con este propósito aplicó

al fraccionamiento de los aceites la extracción líquido-líquido en contracorriente con un solvente selectivo. (34)

De esta manera se pueden obtener por un lado, aceites fuertemente no saturados con elevado índice de yodo y por otro lado aceites saturados con índice de yodo más bajo que los anteriores. Hasta entonces las investigaciones de este tipo no habían sido realizadas con fines cosmetológicos, por lo que esta primera contribución experimental se orientó al fraccionamiento selectivo de los aceites con mayor aplicación en la industria de los cosméticos. -- Los productos así obtenidos mantienen la concentración casi original de las vitaminas además de ser sumamente activos.

Rovesti Paolo determinó la velocidad de penetración isodérmica de esta fracción, para lo cual limpió una superficie de 10 x 10 cm. de piel de la espalda con nafta hasta dejarla sin grasa y seca, de tal forma que al hacer presión con un cuadrito de papel filtro de 12 x 12 cm. no cediese nada de líquido. Posteriormente aplicó un gramo de aceite sobre esta superficie y aplicó un masaje circular-recubriéndose un dedo con polietileno, permaneciendo siempre sobre la superficie señalada de manera que se favoreciese la absorción del aceite, los movimientos debiendo ser siempre iguales durante todo el tiempo de duración de prueba. En determinados períodos de tiempo, aplicó un pedazo de papel filtro previamente tarado de las dimensiones antes mencionadas, haciendo presión para absorber el aceite no absorbido por la piel.

Con este papel se eliminan también los restos del aceite que quedaron en el dedo cubierto con polietileno. Posteriormente, al pesar el papel filtro se obtiene por diferencia, la cantidad en peso del aceite absorbido por la piel en determinado tiempo.

Rovesti Paolo tabuló la velocidad de absorción de los aceites y de las fracciones no saturadas con relación al aceite de vaselina U.S.P. Los glicéridos de los ácidos grasos saturados actúan como retardantes de la absorción cutánea de las fracciones no saturadas. En cambio en las fracciones no saturadas la velocidad de absorción es mayor debido a que el trofismo isodérmico se encuentra

más estimulado por esta fracción que por el aceite.

También se debe observar que las fracciones con elevado índice de yodo tratadas con antioxidantes adecuadas, son tan activas y absorbibles velozmente, que en algunos tipos de piel pueden causar débiles hipertermias o irritaciones.

Por esta razón se deben emulsionar o mezclar con otras sustancias sinérgicas de acción eudérmicas que facilitan la absorción. -

Las fracciones no saturadas obtenidas por Rovesti Paolo actúan como antiarruga muy eficaces y de rápida acción, ya que se obtienen distensiones netas de pieles arrugadas que se vuelven elásticas, tersas, lisas y bien trofizadas. De esta manera, la cosmología moderna puede tener a su disposición materias primas de gran valor eudérmico, esodérmico y vitamínico que pueden ser empleadas en preparaciones de gran calidad.

#### II. EXTRACCION DE ACEITE DE AGUACATE.

El aceite de aguacate se extrae principalmente por tres métodos que se describen a continuación.

1.- Método Soxhlet

2.- Método Butt

3.- método de mezcla de solventes.

A continuación se describen los tres métodos: (24)

1.- Método Soxhlet.- Muestras de 10 g de aguacate se extraen durante 36 horas en un aparato de soxhlet con 150 ml de n-hexano con punto de ebullición de 60° a 70° C. Las investigaciones preliminares indican que la extracción del aceite a partir del aguacate fresco está relacionada con el contenido de humedad de la fruta -- fresca. La recuperación del aceite aumenta al disminuir el contenido de humedad de la fruta fresca, por lo cual se recomienda eliminar el agua antes de realizar la extracción del solvente.

2.- Método de Butt.- Una muestra de 10 g se coloca en un dedal de Butt. Se utiliza como solvente de extracción n-hexano, con

una velocidad de flujo de 10 ml/min. Cada hora se cambia el matraz que contenga los aceites extraídos y en su lugar se coloca otro matraz con 100 ml de solvente fresco. Se repite 3 veces el mismo procedimiento. El solvente de la mezcla se evapora determinándose posteriormente el peso del aceite extraído. Es importante aclarar que al disminuir la humedad aumenta la velocidad de extracción del aceite. Los resultados demuestran que una extracción directa sin eliminar la humedad no es satisfactoria desde el punto de vista de comercialización.

3.- Método de mezcla de solventes.- Se tritura la pulpa de aguacate en un mortero; se mezclan 50 g de la pulpa con una mezcla de 3.2 de alcohol etílico al 95 % y n-hexano en un matraz de tres cuellos con agitador mecánico, condensador de reflujo y un termómetro. La mezcla se pasa a reflujo durante 3 horas, se enfría y se filtra sobre papel Whatmann # 2 a través de un Buchner. Los residuos sólidos se lavan 4 veces con pequeñas cantidades de n-hexano; el filtrado y las soluciones resultantes de los lavados se mezclan en un embudo de separación. La capa inferior se decanta por contener únicamente agua y etanol, en cambio la capa superior que contiene el aceite se recupera mediante evaporación del solvente.

Existen otros métodos de extracción con solventes, entre los cuales se utilizan el de Franzke C. Von y Henning H.J. 1956, extrajeron el aceite a partir de una variedad desconocida con éter de petróleo. (21)

### IIg. ENZIMAS

Una enzima es una proteína que cataliza reacciones biológicas con un cierto grado de especificidad; en su ausencia, las reacciones químicas involucradas en el metabolismo de las células biológicamente activas tardarían mucho tiempo en efectuarse simplemente no se efectuaría. Todas las enzimas conocidas son de origen proteico y, como la mayoría de los catalizadores, sólo aceleran la velocidad de aquellas que termodinámicamente son posibles.

Al hablar de enzimas relacionadas con alimentos es necesario

hacer una distinción entre las enzimas naturales y las que son añadidas para lograr una modificación en el producto final; ambos grupos desempeñan un papel muy importante en las propiedades de cada alimento, algunas de las cuales serán tratadas más adelante.

La tecnología actual permite extraerlas de su fuente de origen y utilizarlas en diferentes aplicaciones industriales para la producción o modificación de alimentos, así como para otros usos - (analíticos, farmacéuticos, etc.). Por otra parte, las enzimas naturales propias de los alimentos pueden tener una acción favorable o dañina en el producto terminado, por lo que el tecnólogo debe conocer las propiedades de cada una de ellas para aprovechar las ventajas que representan su presencia y evitar las reacciones que alteren la calidad de los productos.

La enzimología, así como las tecnologías que emplean enzimas, pertenecen a la era moderna; sin embargo, su uso para la producción de alimentos se remonta a muchos siglos. El vino lo conocían los egipcios y los asirios 3000 años a.c., y fué sólo hasta nuestro siglo cuando se descubrieron los mecanismos de la fermentación. En la antigüedad, muchos pueblos utilizaban las hojas de ciertas plantas para envolver diferentes productos cárnicos; ésto facilitaba la acción de las enzimas proteolíticas como la papaína, la bromelina y la ficina sobre las proteínas animales, lo que ocasionaba el ablandamiento de la carne. Así mismo varias tribus utilizaban los estómagos de animales para producir alimentos menos perecederos a partir de la leche de distintas especies; ahora se sabe que la acción de la renina del estómago del buey sobre las caseínas produce la coagulación de la leche como primer paso en la manufactura de la mayoría de los quesos.

Actualmente se conoce la existencia de más de 2000 enzimas, - que han sido aisladas, purificadas y algunas cristalizadas.

Las sustancias cuya transformación química es acelerada por - influjo de una enzima se denominan "sustratos". En una reacción típica participan generalmente dos sustancias; por ejemplo la hidrólisis de una grasa es una reacción entre la grasa y el agua. En es

te caso, el sustrato de la enzima lipolítica es la grasa. Quizá debiéramos considerar ambos reactantes (la grasa y el agua) como sustratos; pero como el agua participa en todas las hidrólisis y generalmente hay gran exceso de ella, no se considera como tal.

**Especificidad.**- La mayoría de las enzimas tiene la capacidad de catalizar reacciones específicas; es decir, su intervalo de acción se limita a un determinado tipo de sustrato que debe reunir ciertas características para que pueda ser utilizado como tal. La especificidad de las enzimas es una propiedad que las hace diferentes a muchos catalizadores no biológicos y se ha dividido en cuatro grandes grupos: a) especificidad estereoquímica; b) baja especificidad; c) especificidad de grupo, y d) especificidad absoluta. (25) La primera se refiere a que normalmente las enzimas utilizan D o L isómeros como sustratos; por ejemplo, casi todos los monosacáridos en la naturaleza son D isómeros mientras que los aminoácidos pertenecen a la serie L, por lo que las enzimas tienen una especificidad estereoquímica con estos sustratos. La especificidad baja se presenta cuando las enzimas atacan un determinado tipo de enlace químico sin importar la naturaleza del sustrato, como en una variedad de compuestos orgánicos. Las enzimas con especificidad de grupo actúan sobre sustrato que contiene un determinado enlace y un grupo químico específico al lado de dicho enlace; el ejemplo más representativo es el de la tripsina que hidroliza los enlaces peptídicos en los que el grupo carboxilo del enlace está dado por lisina o arginina. Finalmente, la especificidad absoluta es la más común y consiste en que la enzima utiliza una y sólo una sustancia como sustrato.

**Nomenclatura.**- Ha sido muy arbitraria desde sus inicios ya que existen muchas enzimas cuyos nombres no ofrecen ninguna información sobre su actividad o propiedades; sería conveniente que en el nombre de la enzima estuviera implícito el tipo de reacción que catalizan así como el origen de la misma. Los nombres como tripsina, quimotripsina, pepsina y otras, no indican absolutamente nada sobre su especificidad o manera de actuar. A algunas enzimas se --

les ha dado el nombre del descubridor; al de otras, como la papafina, de acuerdo con su procedencia, en este caso la papaya, y en -- otros casos, como la lactasa, su nombre se deriva uel sustrato que utiliza la lactosa.

Debido a este problema de nomenclatura de enzimas, se formó una Comisión de Enzimas de la Unión Internacional de Bioquímica que ha dedicado a desarrollar una forma sistemática para nombrarlas en -- forma ordenada. En 1972 dicha comisión propuso un método de nomenclatura numérica, de tal manera que cada enzima se identifica con un número de cuatro dígitos.

En primer lugar, las enzimas se dividen en seis grandes grupos:

- 1.- Oxidorredctasas - catalizan reacciones de oxido-redución.
- 2.- Transferasas - catalizan reacciones de transferencia de grupos.
- 3.- Hidrolasas - catalizan reacciones hidrolíticas.
- 4.- Liasas - ruptura de un enlace sin participación de agua; se efectúa por un rearrreglo interno de las valencias -- disponibles.
- 5.- Isomerasas - catalizan reacciones que suponen -- isomerización.
- 6.- Ligasas o sistetasas - catalizan reacciones que consisten en la unión de dos moléculas, acopladas con la intervención de un enlace pirofosfato de ATP o de un trifosfato similar.

En la nomenclatura de las enzimas, el primer dígito indica el grupo al que pertenece la enzima de acuerdo con uno de los seis -- mencionados. El segundo corresponde a la subclase de enzima que -- por ejemplo en el caso de las hidrolasas, se refiere al tipo de enlace hidrolizado; el 3.1 corresponde al enlace ester, el 3.2 a enlaces glucosídicos, el 3.4 a enlaces peptídicos, etc. El tercer nú

mero es una segunda subdivisión y ofrece más información con respecto al tipo de sustrato que utiliza la enzima; así por ejemplo, si tenemos una hidrolasa de enlace éster (3.1), el tercer dígito - indicará si el enlace es un éster carboxílico (3.1.1), un tioéster (3.1.2), un éster monofosfato (3.1.3.), etc. Finalmente, el cuarto indica específicamente el sustrato de la enzima en cuestión. La Comisión de Enzimas ha editado una lista muy completa de enzimas - identificadas por el nombre popular, el científico y el número correspondiente de acuerdo con esta nomenclatura. (25)

Las hidrolasas son el grupo de enzimas de mayor interés para el tecnólogo de alimentos y como su nombre lo indica, su acción -- consiste en hidrolizar diferentes enlaces químicos con la introducción de una molécula de agua; dentro de este grupo están las lipasas, las proteasas, las carbohidrasas, las fosfatasa, etc., lo -- que indica que hidrolizan enlaces en lípidos, proteínas, carbohidratos y fosfatos, respectivamente.

Uso Industrial de las Enzimas.- La industria utiliza diferentes enzimas comerciales para la manufactura o el procesamiento de un gran número de alimentos y la tendencia actual en la producción, tanto de alimentos como de materias primas para su elaboración, es la de emplearlas en forma más continua. Las ventajas son las siguientes: a) son de origen natural; b) En los casos de enzimas de origen microbiano existe una reglamentación específica; c) son muy específicas en su forma de acción, por lo que efectúan reacciones que de otra manera serían difíciles; d) funcionan en condiciones moderadas de temperaturas y pH, por lo que no se requieren condiciones drásticas que puedan alterar la naturaleza del alimento, ni -- equipo muy costoso; e) actúan a bajas concentraciones y su velocidad de reacción puede ser controlada al ajustar el pH, la temperatura y la concentración de la enzima y e) son fácilmente inactivadas después de haber alcanzado el cambio deseado.

La fuente más común de enzimas comerciales son los microorganismos, aunque también hay enzimas que provienen de tejidos vegetales y animales. (33)

Las enzimas microbianas presentan más ventajas ya que los microorganismos pueden crecer rápidamente en diferentes condiciones, de manera que es posible la producción de muchas enzimas en grandes cantidades.

Las enzimas microbianas pueden ser intra o extracelulares; -- más fácilmente recuperables del medio de fermentación.

El uso de enzimas comerciales en alimentos se incrementa cada vez más ya que sus aplicaciones son muy amplias y variadas.

**Carbohidrasas.**— Las enzimas más comúnmente empleadas en la industria alimentaria pertenecen a las carbohidrasas; las principales son amilasas, celulasas, disacaridasas y pectinasas.

Las enzimas amilolíticas o amilasas son de cuatro diferentes tipos y se diferencian entre ellas por la manera en que hidrolizan los enlaces químicos del almidón: las  $\alpha$ -(1-4)- y  $\beta$ -(1-6) y finalmente las del grupo de las amilopectina-1,6- glucosidasas hidrolizan exclusivamente los enlaces  $\beta$ -(1-6). De todas éstas, las más importantes son la  $\alpha$  y la  $\beta$ -amilasa, que se llaman así porque al incubarse con una solución de amilosa, la primera aumenta la rotación óptica, mientras que la segunda la reduce. Ambas amilasas se encuentran comúnmente en plantas y semillas en estado de germinación; sin embargo, sólo la  $\alpha$  se ha encontrado en animales; las amilasas de la saliva y del páncreas son  $\alpha$ -amilasas típicas de origen animal. La  $\beta$ -amilasa hidroliza el almidón atacándolo únicamente por su extremo no reductor y produce moléculas de maltosa básicamente; debido a que no hay una inmediata destrucción de la estructura polimérica del almidón, la  $\beta$ -amilasa reduce la viscosidad de las dispersiones de almidón en forma muy lenta. Por otra parte, a la  $\alpha$ -amilasa se la designa como enzima licante ya que al hidrolizar los enlaces químicos del almidón en una forma al azar, reduce rápidamente la viscosidad de las dispersiones de este polímero; el producto de esta hidrólisis son dextrinas, maltosa y glucosa, por lo que el poder reductor de las dispersiones de almidón aumentan considerablemente. Es conveniente señalar que ambas enzimas son inactivas ante los enlaces  $\alpha$  (1-6) de la amilopectina.

(5)

Las amilasas se emplean en la producción de jarabes de glucosa a partir de almidón, en las industrias cervecera y de la panificación, en la modificación de almidones y muchos otros, aunque tal vez el uso más importante sea en la producción de jarabes. El grado de transformación del almidón a glucosa se determina por el poder reductor del jarabe y se expresa como equivalentes de dextrosa (DE).

Debido a que las glucoamilasas atacan los dos enlaces químicos que se encuentran en los almidones, su acción continua produce la hidrólisis total de estos polisacáridos hasta la obtención exclusiva de moléculas de glucosa, por lo que son más efectivas en la producción de jarabes glucosados.

La glucoamilasa es una enzima exo, que produce glucosa a partir del extremo no reductor y es exclusivamente de origen microbiano.

Las pululanasa son enzimas recientemente introducidas al mercado, por su alta actividad hacia enlaces  $\alpha$  (1-6) por lo que se le conoce como derramificadora.

Las pululanasa comerciales se obtienen de microorganismos como Aerobacter aerogenes, Escherichia intermedia y Streptococcus mitis y tienen la capacidad de hidrolizar la amilopectina y las dextrinas límite. La pululanasa vegetal más importante es la que se conoce con el nombre de enzima R, cuya acción en forma conjunta con la  $\alpha$ -amilasa produce altas concentraciones de maltosa a partir de almidón. El uso comercial más importante de las pululanasa es en la producción de maltosa o jarabes con contenido elevado en maltosa, ya que ésta tiene muchas ventajas sobre los de glucosa y son muy adecuados en la manufactura de helados, dulces, mermeladas y otros. La fabricación comercial de maltosa y sus jarabes se efectúa incubando el almidón gelatinizado con una mezcla de  $\beta$ -amilasa y pulunasa a una temperatura propia para lograr la máxima actividad de ambas enzimas.

Las celulasas comerciales provienen de Aspergillus niger y Trichoderma viride y atacan a la celulosa produciendo celulodextri

nas y glucosa; se ha utilizado en la industria alimentaria para -- ablandar vegetales y frutas de tejidos celulósicos, al igual que -- en diferentes productos para facilitar su rehidratación.

Las disacáridas más importantes son la invertasa ( $\beta$ -fructofuranidasa) y la lactasa, ( $\beta$ -galactosidasa), que hidrolizan la sacarosa y la lactosa respectivamente a sus correspondientes monosacáridos. La invertasa se utiliza en la fabricación de la miel artificial y de azúcar invertido que tiene una gran demanda debido -- a que su poder edulcorante es mayor que el de la propia sacarosa; una ventaja muy importante de los azúcares invertidos es su elevada solubilidad y poca tendencia a cristalizar, por lo que son empleados en la industria de la confitería. La hidrólisis de la lactosa produce una mezcla equimolecular de glucosa y galactosa más dulce que el propio disacárido; la  $\beta$ -galactosidasa del S. fragilis se ha usado ampliamente para hidrolizar la lactosa del suero de la leche, de manera que el suero hidrolizado se utiliza en la manufactura de varios productos alimenticios puesto que las proteínas que contiene son de muy buena calidad. La lactasa por ejemplo se usa -- para controlar la cristalización de la lactosa en helados y así -- evitar su arenosidad.

Las pectinasas son un grupo muy amplio de enzimas que degradan las sustancias pécticas de frutos y vegetales. Las preparaciones comerciales provienen básicamente del Aspergillus niger y -- son mezclas de diferentes enzimas, pero con una alta actividad de pectinmetilesterasa y de poligalacturonasa fundamentalmente.

Lípasa.- Existen lipasas de origen microbiano, empleadas en -- la industria alimentaria; su mayor uso es en lácteos, principalmente en quesos, donde su acción es muy importante para el desarrollo del sabor de estos productos. Existen varios aditivos comerciales con características organolépticas de derivados lácteos; que son -- producidos por la acción de la lipasa sobre la grasa de la leche. En algunas ocasiones las bebidas lácteas con sabor a chocolate adquieren su sabor característico a través del uso controlado de estas enzimas.

Proteasas.- Las proteasas se utilizan en la industria alimentaria en una gran diversidad de productos. Estas enzimas hidrolizan las proteínas en forma ordenada ya que la mayoría tiene cierta especificidad para un determinado enlace peptídico. Existen dos tipos de proteasas básicamente: las endopeptidasas que hidrolizan -- los enlaces peptídicos internos de las proteínas y las exopeptidasas que atacan sus aminoácidos terminales. Este último tipo a su vez se subdividen en aminopeptidasas, que actúan por el lado del grupo amino terminal, y en carboxipeptidasas que hidrolizan los aminoácidos por el lado del carboxilo terminal.

Existen fuentes muy abundantes de proteasas de origen vegetal y animal, aunque en los últimos años se han empleado muchos microorganismos entre los cuales los más importantes son: B. thermoproteoliticus, A. oryzae, A. niger, A. saitoi, Rhizopus sp., S. griseus y Mucor pusillus. Las proteasas de B. subtilis son, las de mayor importancia comercial, aunque su aplicación es en detergentes.

Las preparaciones comerciales de proteasas son mezclas de varios tipos de enzimas, por lo que su acción proteolítica es muy diversa. Al igual que cualquier otra enzima, el uso de proteasas requiere de condiciones muy específicas de temperatura, pH y fuerza iónica para obtener los resultados deseados. Entre las enzimas más importantes enemos la pepsina, la tripsina, la quimotripsina y la renina ( de origen animal) y la papaína, la bromelina y la ficina ( de origen vegetal). La renina es tal vez la enzima más antigua -- que se conoce ya que se ha empleado en la coagulación de la leche y en la manufactura de quesos desde hace muchos siglos.

Un uso muy importante de las proteasas tiene lugar en el -- ablandamiento de la carne, que se efectúa con enzimas tanto de origen vegetal como microbiano. La papaína, la bromelina y la ficina son muy activas sobre el tejido conectivo, principalmente colágena y elastina, teniendo menor acción sobre las proteínas de fibras -- musculares; por otra parte, las de origen microbiano ejercen mayor efecto sobre el músculo y menor actividad hidrolítica en la colage na y la elastina. Uno de los sistemas más efectivos que actualmente se emplean para suavizar la carne consiste en la inyección de --

soluciones de enzimas proteolíticas en el sistema circulatorio del animal antes de su sacrificio, con lo que se logra que la enzima se homogenice en todos los tejidos; la papaína, es la más utilizada en estos casos.

Otros usos de las proteasas se encuentra en la industria cervecera para evitar el enturbiamiento a bajas temperaturas, ya que la niebla o turbidez de la cerveza se debe a la proteína, los taninos y los carbohidratos propios de las materias primas con las que se elabora. La acción de la papaína, la bromelina y otras ayuda a eliminar esta turbidez al hidrolizar la proteína para lo que requiere aproximadamente 8 ppm de enzima. (18)

Glucosa oxidasa.- Esta enzima cataliza la reacción entre la -D glucosa y el oxígeno molecular, formando ácido glucónico y peróxido de hidrógeno; se obtiene de Penicillium notatum, P. amagasakiense y A. niger. La glucosa oxidasa se ha utilizado para el análisis cuantitativo de glucosa en diferentes industrias como la alimentaria y la farmacéutica.

La aplicación más importante de esta enzima es en la eliminación de la glucosa del huevo antes de su secado o deshidratación.- Esto es necesario ya que de otra manera el huevo en polvo tiende a presentar reacciones de deterioro, como el oscurecimiento no enzimático, durante su almacenamiento.

La glucosa oxidasa también se puede utilizar para eliminar el oxígeno contenido en muchos alimentos; este gas es el indicador de muchas de las reacciones de deterioro como cambios en el color y el sabor, por lo cual su eliminación resulta muy conveniente. (18)

Catalasa.- Esta enzima convierte el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno; se obtiene comercialmente del hígado, o bien de microorganismos como Micrococcus lysodeikticus y A. niger. Se emplea en la eliminación de peróxido de hidrógeno residual que se utiliza en el blanqueo de algunos alimentos, o en la "pasteurización en frío".

Muchos países en desarrollo no cuentan con instalaciones para enfriar la leche inmediatamente después de obtenerla, por lo que -

se usa peróxido de hidrógeno para eliminar los microorganismos dañinos. Normalmente se emplean 1-2 ml de peróxido al 33 % para conservar la leche en condiciones de ser transportada hasta la planta procesadora; posteriormente se trata térmicamente y con catalasa para eliminar el peróxido residual. (5)

## CAPITULO III

### METODOS Y MATERIALES

#### Materias Primas:

Los aguacates que se utilizaron fueron adquiridos en un mercado de la Ciudad de México, la variedad utilizada para realizar los experimentos fue la Hass. La cantidad de aguacate variaba de acuerdo a las necesidades de cada experimento, siempre tratando de que fueran de un mismo lote y que provinieran del mismo lugar, en este caso procedían del estado de Michoacán.

Las enzimas que se utilizaron provenían de: Complementos Alimenticios, S.A. Tenasa ( $\alpha$ -amilasa); ENMEA proteasas microbiana y Sigma, S.A. celulasa.

#### Análisis Bromatológico:

Se realizó el análisis bromatológico de la pulpa del aguacate. Esta se obtenía después de quitar la cáscara y el hueso. Una vez que se obtenía la pulpa se mezclaba perfectamente para obtener una muestra homogénea.

Los análisis realizados fueron los siguientes: Humedad, cenizas, proteína por el método de Kjeldahl, fibra cruda, grasa cruda por el método de Soxhlet y carbohidratos. Estos análisis fueron -- realizados siguiendo las técnicas del A.O.A.C.

#### Selección de las enzimas:

Una vez que se obtuvo una pasta homogénea, se procedió a la selección de las enzimas, para llevar a cabo el proceso de extracción. En función del resultado del análisis bromatológico se definió las diversas estrategias que permitieran alcanzar los objetivos planteados. Se realizaron experimentos utilizando enzimas como celulasa; papaína,  $\alpha$ -amilasa así como una combinación ellas, celulosa-papaína, celulasa -  $\alpha$ -amilasa,  $\alpha$ -amilasa - papaína y celulasa -  $\alpha$ -amilasa - papaína.

#### Selección de la Temperatura:

Una vez seleccionada la enzima, se procedió a realizar experimentos para determinar la temperatura y el tiempo óptimo de reacción. Se usó un rango de temperatura de 40 - 70°C, así como el tiempo de reacción fué de 30 min. a 3 hrs.

#### Dilución:

Después de realizada la selección de la enzima, la temperatura y el tiempo óptimo de reacción se procedió a realizar la selección de la dilución adecuada ya que, para efectuar este proceso se requiere de agua y formar de esta forma una emulsión para llevar a cabo la reacción enzimática. Para seleccionar la dilución particular se hicieron experimentos variando la cantidad de agua con respecto a la cantidad de pulpa, licuando esta mezcla en la licuadora para formar una pasta homogénea.

Las diluciones que se probaron fueron de 1:3 a 1:6

#### Tiempo de Centrifugación:

Una vez realizados los experimentos para determinar la dilución adecuada, la enzima, la temperatura y el tiempo de reacción óptimos se procedió a determinar el tiempo y la velocidad de centrifugación.

Las velocidades que se utilizaron fueron de 5,000 y 10,000 rpm a un tiempo de 10, 20 y 30 minutos.

#### Utilización de Antioxidantes:

Para evitar la oxidación se utilizó sulfito de sodio y hidroxianisil titulado en una concentración de 0.015 %.

CAPITULO IV

RESULTADOS

### 1) Análisis Bromatológicos

Inicialmente, se procedió a caracterizar la materia prima, es decir el aguacate. Es importante señalar que los análisis fueron realizados a muestras de aguacate maduro. Los resultados se muestran en la tabla 7, de donde destaca el contenido promedio de aceite, que es superior al 70 % en base seca.

TABLA VII ANALISIS BROMATOLOGICO DE LA PULPA DE AGUACATE (base - seca)

---

	g %
Humedad	
Cenizas	4.20
Proteínas	8.10
Grasa	70.06
Fibra cruda	7.17
Carbohidratos	7.47

---

(variedad Hass)

TABLA VIII CANTIDAD DE ACEITE DURANTE LA MADURACION.  
(Base Seca)

Tiempo de maduración (días)	% Grasa
1	49.45
3	54.61
5	60.09
7	64.12
9	67.09
11	68.93
13	69.65

El grado de maduración del aguacate decide un papel fundamental en el proceso, dada la variación en el contenido de aceite con la madurez. Por esta razón se analizaron muestras con diversos grados de madurez determinando así las condiciones a las cuales debe efectuarse el proceso, en términos de la materia prima. Los resultados se muestran en la Tabla VIII de la que se desprende que la materia prima en plena madurez resulta óptima para el proceso, ya que en estas condiciones, el contenido de aceite es máximo. Durante todo el desarrollo del proyecto, el rendimiento de extracción es calculado con relación al valor obtenido en el análisis bromatológico, es decir:

$$\text{Rendimiento de extracción} = \frac{\text{Aceite total extraído}}{\text{Aceite total en la materia prima}} \times 100$$

## II) Preparación de la pasta de aguacate

Para llevar a cabo el proceso de reacción y con el fin de facilitar la acción enzimática, el aguacate fué acondicionado en forma de pasta, a la cual se adicionaron las enzimas. De esta forma fué posible controlar la reacción mediante agitación, haciendo más uniforme el proceso.

## III) Selección de la enzima

La selección de la(s) enzima(s) para el proceso, constituye la etapa más importante, puesto que de acuerdo a la hipótesis de trabajo, es su acción sobre la materia prima, lo que permitirá la liberación y por lo tanto fácil recuperación del aceite.

Se utilizaron en un inicio las enzimas: celulasas, papaína y -amilasa, cada una por separado y diferentes combinaciones de ellas. La enzima que mostró mayor rendimiento en la extracción del aceite fué la -amilasa como puede observarse en la figura 1. El rendimiento original fué similar al obtenido con otras enzimas, -- por lo que en términos de costo y facilidad de implementación se seleccionó a la -amilasa. La acción de la enzima sobre el almidón residual del aguacate, es entonces el mecanismo que facilita la recuperación del aceite. Para determinar la concentración óptima de la enzima, se realizaron experimentos variando su concentración: 0.05, 0.1, 0.5, 1, 2 y 3 %. Los resultados se pueden observar en la figura 2, de donde se desprende que un 1 % resulta óptimo.

## IV) Tiempo y temperatura de reacción

Cada enzima presenta un óptimo de temperatura en el que las reacciones se efectúan a una velocidad máxima, para encontrar este punto óptimo para la -amilasa empleada, se realizaron experimen

tos variando la temperatura en el rango de 40 a 70°C. Los resultados se presentan en la figura 3 donde se observa un óptimo de extracción después de la centrifugación a 65°C. Este experimento se realizó con amilasa al 1%.

Una vez definida la temperatura óptima se procedió a analizar el efecto del tiempo de reacción en el rendimiento de extracción. Los resultados se observan en la figura 4. De esta figura se desprende como conclusión, que después de 2 hrs. de reacción el rendimiento de extracción ya no se incrementa, resultando ineficiente continuar la reacción.

#### V) Efecto de la concentración de agua en la reacción de extracción.

Las enzimas hidrolíticas requieren de agua como sustrato para el desarrollo de la reacción. Por esta razón se realizaron diferentes pruebas para determinar la dilución óptima en términos del rendimiento. Como puede observarse en la figura 5, la dilución empleada en los experimentos anteriores no era la óptima en términos del rendimiento de extracción ya que al efectuar una dilución de 1:5 es posible incrementar el rendimiento hasta un 73 %.

#### VI) Tiempo y velocidad de centrifugación

Una vez optimizado el proceso enzimático para la máxima extracción de aceite, se procedió a determinar el tiempo y la velocidad de centrifugación, etapa final en el proceso. Se realizaron centrifugaciones a diferentes tiempos, a una velocidad de 10 000 rpm. Los resultados se informan en la figura 6, de donde se desprende que 10 minutos son suficientes para lograr la separación del aceite liberado durante la reacción.

#### VII) Utilización de sulfito de sodio y antioxidantes.

Se utilizó sulfito de sodio y el hidroxianisol butilado. Para evitar la oxidación de la materia prima durante el proceso de extracción en una proporción de 0.015 %.

### VIII) Pruebas a nivel piloto

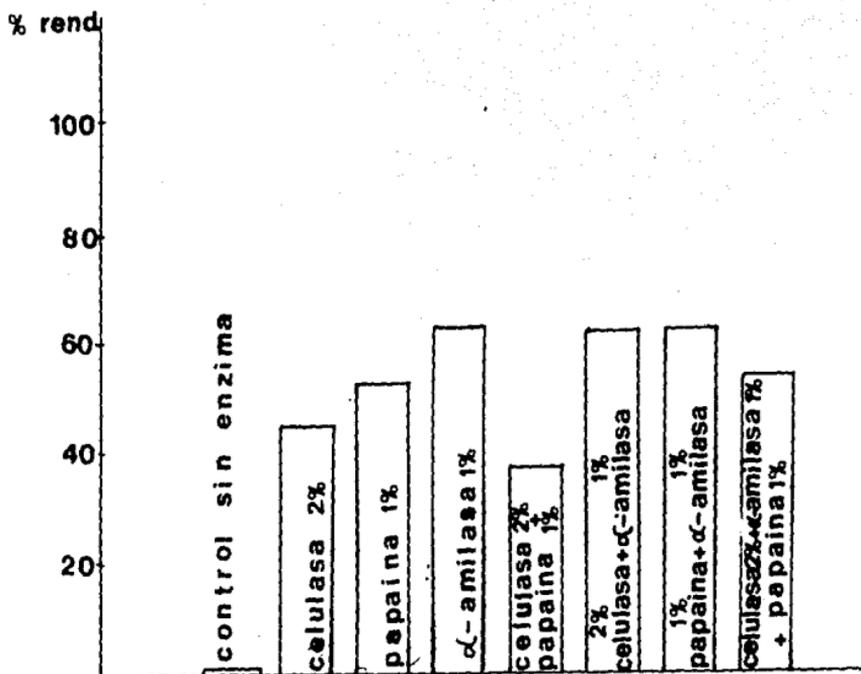
Finalmente, con el fin de evaluar el proceso desarrollado a una escala superior, se efectuó el proceso con 15 Kg. de aguacate maduro, el cual fue tratado enzimáticamente en las condiciones descritas con anterioridad, en un tanque agitado de acero inoxidable de 50 l. Después de 2 hrs. de reacción, la mezcla fue alimentada a una centrífuga continua SHARPLESS para la liberación del aceite.

El diagrama de bloques del proceso diseñado se presenta en la figura 6.

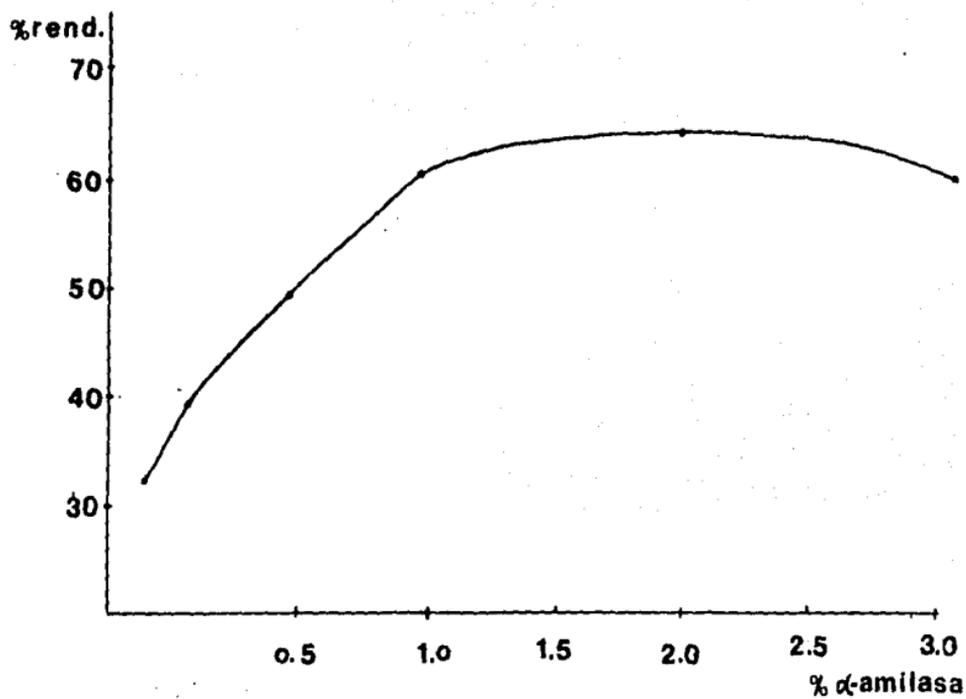
### IX) Subproductos

La pasta obtenida como subproducto después de la centrifugación, presenta características óptimas para la alimentación animal. Después de centrifugado puede secarse fácilmente y ser usada como complemento alimenticio. Su composición en base seca es de:

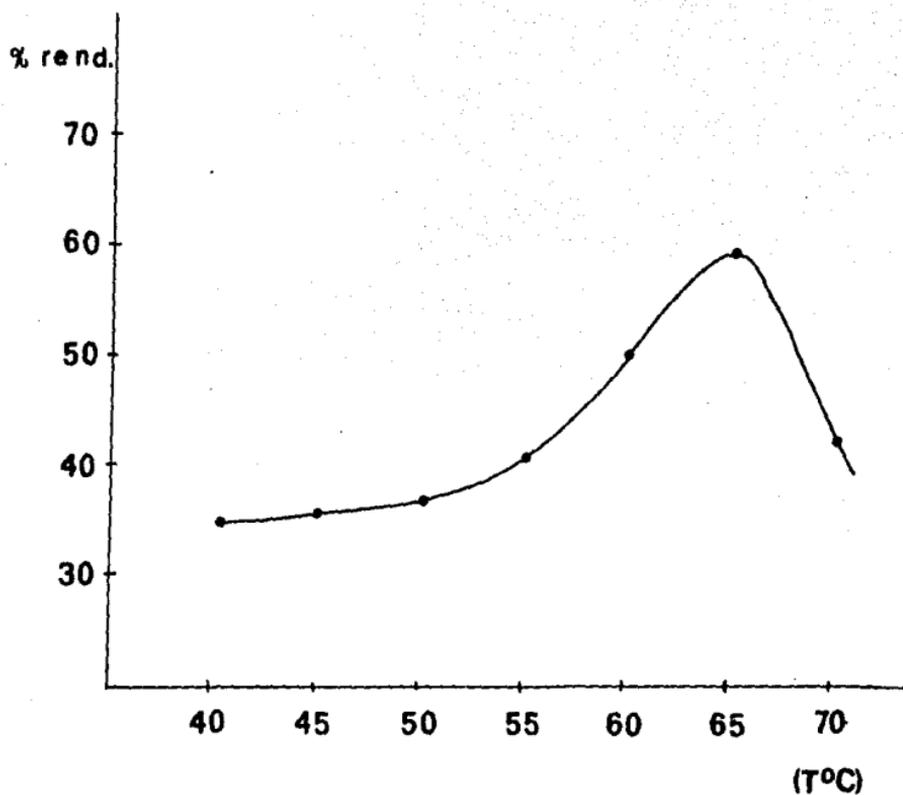
	%
Humedad	---
Cenizas	15.59
Proteínas	30.06
Fibra cruda	26.61
Carbohidratos	27.72



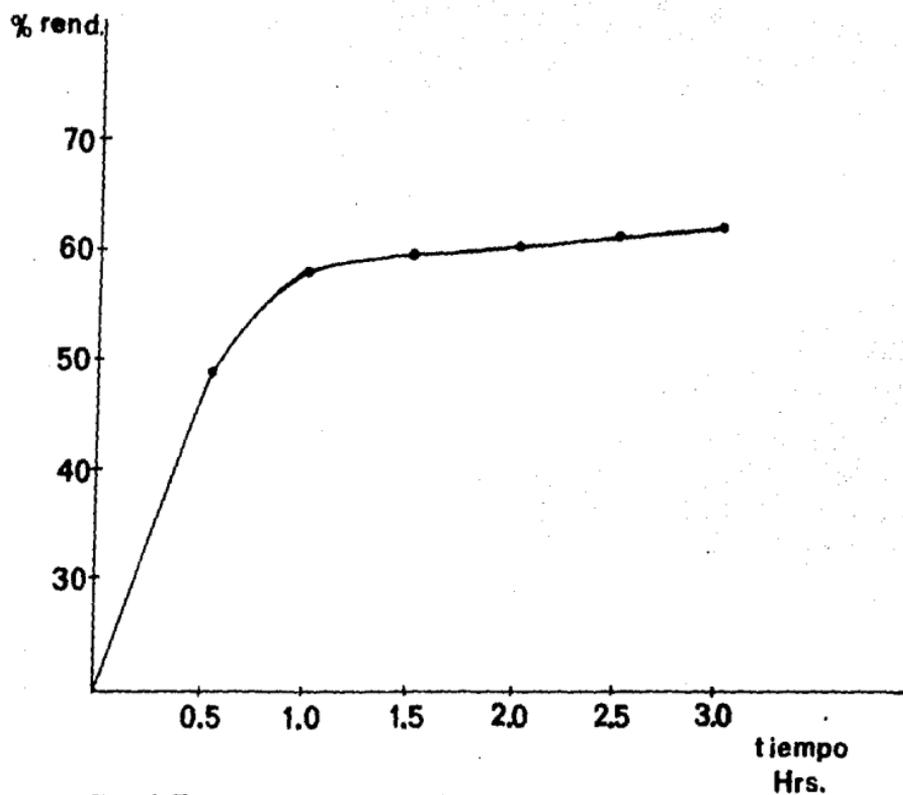
**Fig.1 Efecto del tipo de enzima empleada en el rendimiento de extracción de aceite de aguacate (dilución 1:4, T°C=40, t=1.5hrs.)**



**Fig. 2** Efecto de la concentración de  $\alpha$ -amilasa en el rendimiento de extracción de aceite de aguacate (dilucion 1:4,  $T^{\circ}C=40$ ,  $t=1.5$  hrs)



**Fig.3 Efecto de la temperatura en el rendimiento de extracción de aceite de aguacate ([E]=1%, dilucion 1:4, t=1.5hrs.)**



**Fig. 4** Evolución de la reacción enzimática en el rendimiento de extracción de aceite de aguacate ( $[E]=1\%$ , dilución 1:4,  $T^{\circ}C=65$ )

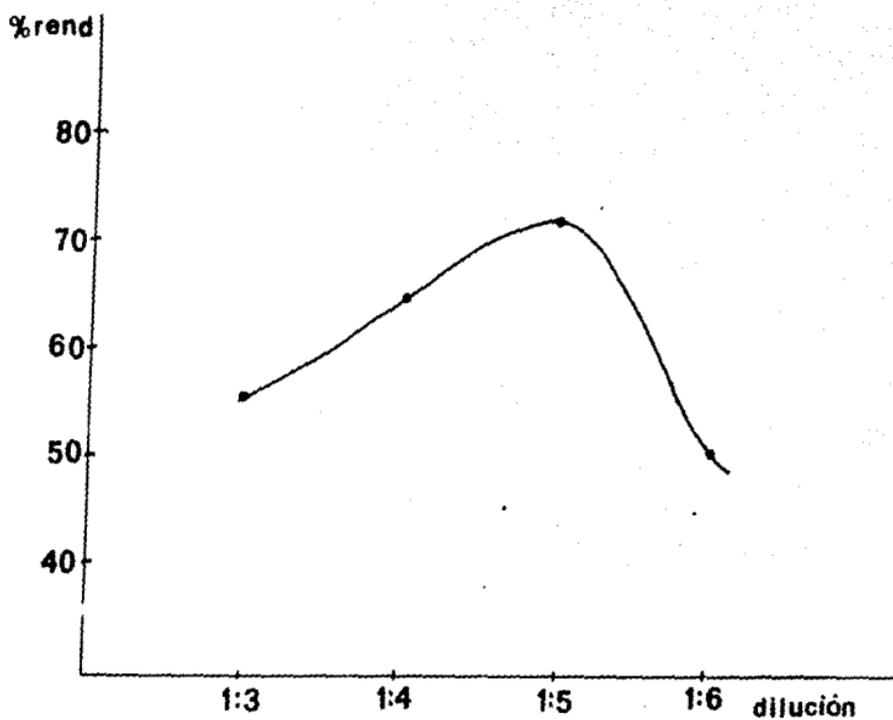


Fig.5 Efecto del nivel de dilución de la pasta de aguacate en el rendimiento de extracción  
([E]=1%, T<sup>o</sup>C=65, t= 2 hrs.)

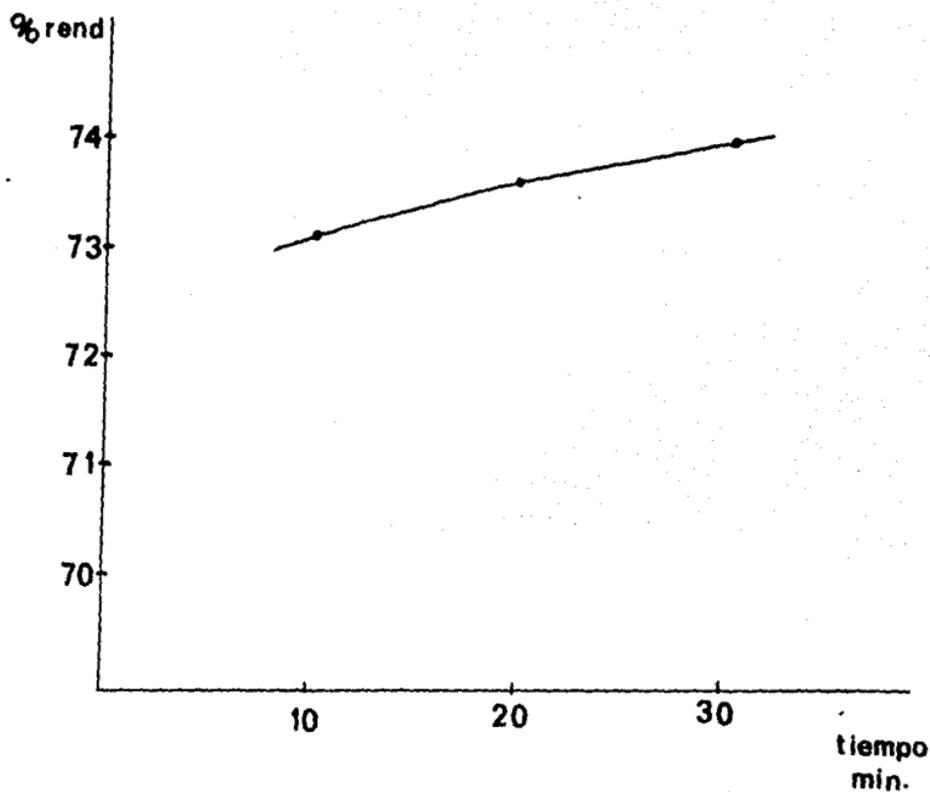


Fig. 6 Tiempo de centrifugación (10,000 r.p.m.)  
( $[E] = 1\%$ , dilución 1:5,  $T^{\circ}C = 65$ ,  $t = 2$  hrs.)

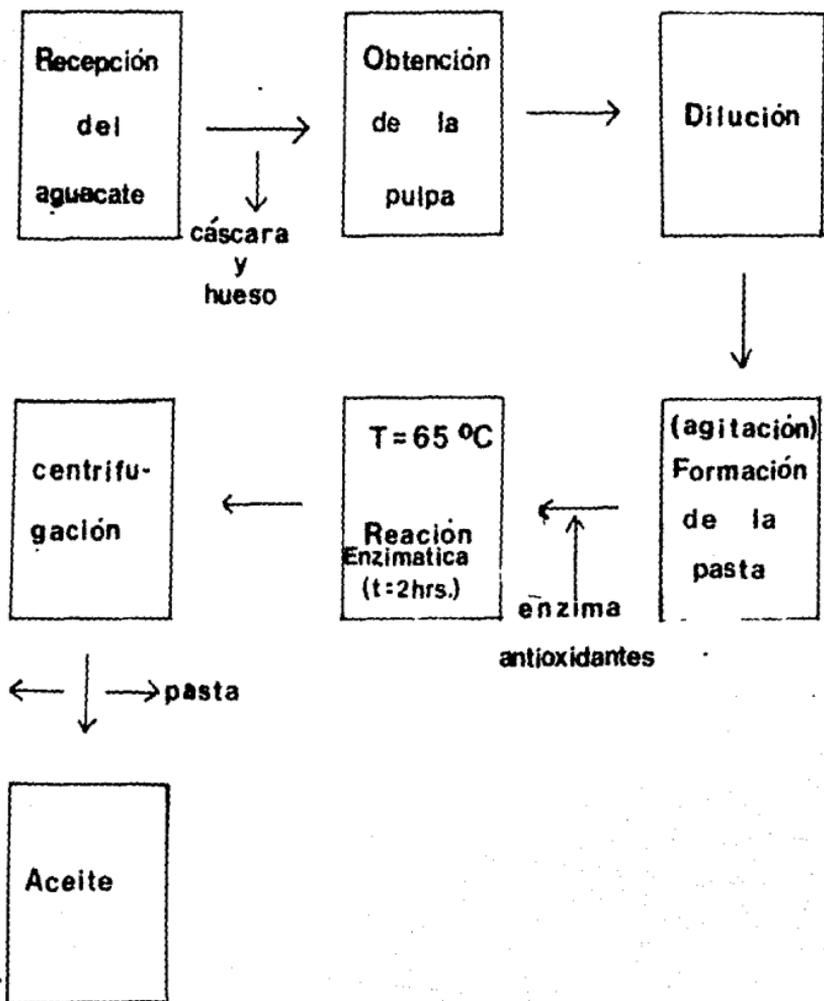


Fig.7 Diagrama de bloques del proceso enzimático

ESTA TESIS NO PUEDE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA

CAPITULO V

CONCLUSIONES

### CONCLUSIONES

El aceite se extrae a partir de la pulpa madura del aguacate, la cantidad de aceite aumenta al madurar este fruto.

El método de extracción por solventes requiere de equipo más elaborado así como mayor número de operaciones para la extracción. En el caso del método enzimático únicamente se requiere de un tanque de reacción con agitación, calentamiento y una centrifuga.

La enzima que se utiliza en el proceso propuesto es la -amílase que tiene la función de licerar la grasa presente en la pulpa del aguacate.

Las condiciones óptimas para este proceso son las siguientes:

- Dilución 1:5 (pulpa de aguacate/agua)
- Concentración de la -amilasa 1: p/v.
- Temperatura de reacción 65°C
- Tiempo de reacción 2 hrs.
- Velocidad de centrifugación una vez realizado el proceso enzimático 10,000 rpm.

El proceso enzimático permite aprovechar grandes cantidades de materia prima que actualmente se desperdicia en el Estado de Michoacán.

Con este trabajo se logró desarrollar un método de extracción más rápido.

**CAPITULO VI**

**BIBLIOGRAFIA**

- 1.- Acevedo Rodríguez Rosa Trinidad, Estudio Químico Analítico de la Persea Schiedeana. Escuela de Farmacia de la Universidad - Nacional de Guatemala. 1963.
- 2.- A.O.A.C. Methods of Analysis. George Banta Co. Inc. Menasha - Wisconsin, U.S.A. 13<sup>a</sup> Ed.
- 3.- B. N. Stuckey, Antioxidants. R.W. Schultz et al. (Eds.) Symposium of Food: Lipids and their Oxidation. The Avi Publishing Westport, Conn., 1962.
- 4.- B. Sreenivasan, Interesterification of Fats, J.Am. Oil Chem. Soc. 55 796 (1978).
- 5.- Badui, D.S., Química de los Alimentos, Editorial Alhambra. -- México 1981 1<sup>a</sup> Ed.
- 6.- Balasobramanian and K. Sihotang. Studies of protein and enzyme activities. Journal of Food Science Vol. 44 No. 1, 1979.
- 7.- Bertoni M.H. Karman de Sutton y Cattaneo P. Estudio sobre Palmas Argentinas. Anales Asociación Química Argentinas. 1967.
- 8.- Braverman J.B.S. Introduction to the Biochemistry of Foods -- Elsevier Publishing Co., New York. 1963.
- 9.- Calvino Kameli E. Persea Italiana, Loro Valore Alimentare e - Dietetico Fitoterapia 27: 1956.
- 10.- Cintra mc. Glone Octavio. Desarrollo de un proceso enzimático para la obtención de Aceite de Coco, México, D. F. 1984.
- 11.- Comisión Nacional de Fruticultura. Palo Alto, D. F. 1973
- 12.- Cox, H.E. y Pearson, D. The Chemical Analysis of Food. Chemical Publishing Co., New York 1961
- 13.- Chapman D. Introduction of Lipids. McGraw-Hill, Nueva York, - 1969.
- 14.- Deuel, H.J., Jr. 1955. The Lipids, Vol. 1, Interscience Publishers, New York.

- 15.- Dozant Von y Yazicioglu T. Zusammensetzung und Beschaffenheit -- der Avocatobirnen aus Adana Turkei und die Eigenschaften und Kennzahlen des daraus gewonnenen. Fette und Seifen 1951.
- 16.- Eckey, E. W. Vegetable Fats and Oils. Reinhold Publishing - - Corp. New York 1954.
- 17.- Enciclopedia Barsa 2. 1972.
- 18.- Eskin N.A.M., Henderson H.M. y Townsend R., Enzimas in the -- Food Industry, en Biochemistry of Foods. Academic Press, Nueva York, 1971.
- 19.- Fideli E. Lanzani, A. Jacini G. Composizioni dell'insaponificabile dell'olio di avocado. La Rivista Italiana delle Sostanze Grasse 44:12, 1967.
- 20.- Führer Helmut. Avocadool, Eigenschaften und Verwendung in der Kosmetik. Seifen-Ole - Fette - Wachs 79: 1953
- 21.- Franzke G Von y Henning H.J.  
Zur Kenntnis Avocatobirne. Deutsche Lebensmittel Rundschau 52: 1956.
- 22.- Heinrich W. Helen. Método para Preservar el aguacate. Patente número 2,641,548.E.E.U.U.
- 23.- Hoffmann.G. Vegetable oils. En Symposium on Foods: Lipids -- and Their Oxidation, H.W. Schultz, E.A. Day y R.O. Sinnhuber (editores). Avi Publishing Co. Westport, Conn 1962.
- 24.- Iverson J.L. Fatty Acid Content of Vegetable Oils, Unusual -- Oils, Marine Oils and Margarines. Journal of the Association -- of Official Agricultural Chemists 48:5, 1965
- 25.- International Union of Biochemistry, Stanling Comittees on Enzymes, Enzyme Nomenclature Recomendations, 1972. Amsterdam, - 1973.
- 26.- Lea C.H. The Oxidative Deterioration of Food Lipids en H.W. - Schultz et al (Eds) Symposium on Food: Lipids and their Oxidation. The Avi Publishing, Westport, Conn., 1962
- 27.- Lehninger L.Albert. Bioquímica. Ediciones Omega S.A. Barcelona 1980 2ª Ed.

- 28.- Mattil K.F., Bailey's Industrial Oil and Fat Products 3a. ed D. Swern (Ed.), Interscience Publ., Nueva York, 1964
- 29.- Menlenocher, V.C. The Analysis of Fats and Oils. Garrard -- Press; Champaign, III. 1960
- 30.- Montano G. H. Luh B.S. y Smith L.M., Extracting and Refining- Avocado Oil, Food Technology 16:2, 1962
- 31.- Falton, J. Dairy products. En Symposium on Foods: Lipids and Their Oxidation H.W. Schultz, E.A. Day y R.O. Sinnhuber (editores). Avi Publishing Co., Westport Conn. 1962
- 32.- Paquot c. y Tassel M. Sur l'insaponificable de l'huile d'avocat, Oleagineux 21: 7 1966.
- 33.- Reed Gerald, Enzymes in Food Processing. Academic Press 2<sup>a</sup> Ed New York U.S.A. 1975
- 34.- Rovesti Paolo, Estrazione con Solvente Selettivi di Frazioni d'olio ad Alto Indice di Iodio per Applicazioni Eudermiche e Cutitrofiche. Piante Officinali - Olli Vegetali Sapini 38: - 1956
- 35.- Roxan P.G. Process of recovering oils from oleaginous, ments of nuts, beans and seeds. U.S. Patent 3083365 March 26 1963
- 36.- Sherwin S.R., Oxidation and Antioxidants in Fat and Oil Processing, J. Am. Oil Chem. Soc. 55 809 (1978).
- 37.- Schweitzer, M.K. Continuous Processing of Fats. Leonard Hill, Ltd. London 1951.
- 38.- Schwob Roger Von, Composition Chimique de l'avocat Fruits -- 6:5, 1951
- 39.- Schwob Roger Von, A review of the Production, Proprieties and Applications of Avocado Oil. Seifen - Ole Fette - Wachse 80 1954
- 40.- Stansby, M. E., Fish Oils their Chemistry, Technology, Stability, Nutritional Properties, and Uses. Avi Publishing Co., - Westport, Conn. 1967

- 41.- Thomas Thomas. Chemistry and Biology an interface in oils. -- Chem and Ind. 1982.
- 42.- Webb F.C. Biochemical Engineering. Van Nostrand, Lonures, 1964
- 43.- Weiss T.J. Fats and Oils, J.L. Heid y M.A. Josly (eds.) Food Processing Operation, Vol. 2 The Avi Publishing, Westport, -- Conn. 1963
- 44.- Weiss T.J., Food Oils and their Uses. The Avi Publishing, West port, Conn. 1970
- 45.- Whitaker J.R., Principles of Enzymology for the Food Science. Marcel Dekker, Nueva York, 1972.
- 46.- Winderkofler M.A., Enzimes T.E. Furia (Ed.) Handbook of Food Additives. CRC Press, Cleveland, 1972.