



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

---

---

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTILÁN

## Extracción de aceite asistida por microondas y ultrasonido en puré de aguacate

T E S I S  
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
INGENIERO EN ALIMENTOS  
PRESENTA:  
LUIS ABRAHAM MARTÍNEZ GONZÁLEZ

Asesoras:

Dra. Laura Patricia Martínez Padilla

Dra. Virginia Agustina Delgado Reyes



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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 esta 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.



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN  
SECRETARÍA GENERAL  
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ  
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN  
PRESENTE

ATN: I.A. LAURA MARGARITA CORTAZAR FIGUEROA  
Jefa del Departamento de Exámenes Profesionales  
de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: **Trabajo de Tesis**

**Extracción de aceite asistida por microondas y ultrasonido en puré de aguacate.**

Que presenta el pasante: **Luis Abraham Martínez González**

Con número de cuenta: **311310759** para obtener el Título de la carrera: **Ingeniería en Alimentos**

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO**.

**ATENTAMENTE**

**“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”**

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 11 de Septiembre de 2018.

**PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO**

	NOMBRE	FIRMA
<b>PRESIDENTE</b>	<u>Dra. Laura Patricia Martínez Padilla</u>	
<b>VOCAL</b>	<u>I.Q.I. José Oscar Germán Ibarra</u>	
<b>SECRETARIO</b>	<u>I.A. María Guadalupe López Franco</u>	
<b>1er. SUPLENTE</b>	<u>Dra. María Guadalupe Sosa Herrera</u>	
<b>2do. SUPLENTE</b>	<u>Dra. María Elena Pahua Ramos</u>	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

## **AGRADECIMIENTOS**

A Eugenia por amarme como se puede amar a un hijo, porque sin su apoyo incondicional no habría sido posible la culminación de esta etapa tan importante de mi vida.

A Ilse por amarme de la manera en que lo hace y mostrarme lo que significa tener una ayuda idónea, por compartir conmigo cada momento y ser un soporte importante en mi vida, así como todas sus palabras de aliento, guía y enseñanza en el camino en la búsqueda de mí mismo y de la felicidad.

A mis padres por amarme y formarme, por la oportunidad que me dieron de estudiar y de desarrollarme como ser humano, por todo el esfuerzo y sacrificios que hicieron para que yo pudiera encontrar la forma de sembrar las mejores cualidades de mí mismo.

A mis amigos por acompañarme en esta etapa, escucharme y apoyarme. Por todos los momentos de felicidad, frustración y tristeza que lidiamos juntos.

A mis maestros que plantaron las mejores semillas en mí, que me mostraron la belleza del conocimiento y me motivaron a perseguirlo al igual que ellos para poder acceder a la verdadera riqueza.

A la DGAPA-UNAM, Programa de apoyo a proyectos para la innovación y mejoramiento de la enseñanza, PAPIME PE104817 “Material didáctico y aplicaciones digitales de reología para reforzar el proceso de enseñanza-aprendizaje del Taller Multidisciplinario de Ingeniería en Alimentos opción Reología y Textura de Alimentos”, por el apoyo brindado a través de la beca que me fue otorgada como estudiante de Ingeniería en Alimentos.

# ÍNDICE

	<i>Página</i>
<b>ÍNDICE DE CUADROS</b>	iv
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b>	vii
<b>RESUMEN</b>	1
<b>INTRODUCCIÓN</b>	2
<b>CAPÍTULO I. ANTECEDENTES</b>	5
1.1 Aguacate	5
1.2 Aceite de aguacate	7
1.3 Puré de aguacate	10
1.4 Métodos tradicionales de extracción de aceite	12
1.4.1 Separación acuosa	15
1.4.2 Extracción por solventes	18
1.4.3 Comparación entre varios métodos de extracción	19
1.5 Extracción de aceite asistida por ultrasonido	21
1.5.1 Principios físicos de separación	23
1.5.2 Ultrasonido aplicado a puré de aguacate	28
1.6 Extracción de aceite asistida por microondas	29
1.7 Reología de puré y aceite de aguacate	35
1.7.1 Viscosimetría rotacional	37
1.7.2 Pruebas dinámicas	40
<b>CAPÍTULO II. METODOLOGÍA</b>	47
2.1 Objetivos	47
2.2 Materiales	48
2.3 Métodos	48
2.3.1 Preparación del puré de aguacate	48
2.3.2 Determinación de propiedades físicas y reológicas del puré de aguacate	49
2.3.2.1 Humedad	49

2.3.2.2 Rendimiento de pulpa de aguacate	49
2.3.2.3 Propiedades viscoelásticas del puré de aguacate	49
2.3.3 Extracción de aceite de aguacate por medio de ultrasonido y microondas	50
2.3.3.1 Tratamiento con ultrasonido	50
2.3.3.2 Tratamiento con microondas	51
2.3.3.3 Separación de aceite	51
2.3.4 Determinación de propiedades físicas y reológicas del aceite de aguacate extraído por ultrasonido y/o microondas	52
2.3.4.1 Rendimiento de aceite	52
2.3.4.2 Viscosidad de aceite	53
2.3.5 Determinación de propiedades fisicoquímicas antes y después de cada tratamiento aplicado al puré de aguacate	54
2.3.5.1 Tamaño de partícula	54
2.3.5.2 pH	55
2.4 Diseño experimental	56
2.5 Determinación de propiedades físicas, químicas y reológicas de aceite de aguacate extraído bajo las condiciones óptimas	58
2.5.1 Lípidos extraíbles con hexano	58
2.5.2 Índice de peróxidos	60
2.5.3 Índice de yodo	61
2.5.4 Índice de acidez	62
2.5.5 Polifenoles totales	62
2.5.6 Viscosidad de aceite de aguacate	63
<b>CAPÍTULO III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	<b>64</b>
3.1 Parámetros de control	64
3.1.1 Rendimiento y humedad	64
3.1.2 Reología del puré de aguacate	69
3.2 Efecto de los tratamientos aplicados en el pH y su relación con el rendimiento de extracción de aceite (RA)	73

3.3 Efecto de los tratamientos aplicados en el tamaño de partícula	78
3.4 Efecto de los tratamientos aplicados en el rendimiento de aceite	87
3.5 Efecto de la viscosidad compleja en la extracción de aceite	94
3.6 Optimización del rendimiento de aceite	95
3.7 Propiedades del aceite obtenido bajo condiciones óptimas	96
3.7.1 Parámetros de calidad y rendimiento de aceite	96
3.7.2 Viscosidad del aceite	98
3.7.3 Análisis químico del aceite	100
<b>CONCLUSIONES</b>	104
<b>RECOMENDACIONES</b>	105
<b>REFERENCIAS</b>	106

## ÍNDICE DE CUADROS

	<i>Página</i>
1.1. Contenido de vitaminas en pulpa de aguacate.	5
1.2. Composición de la porción comestible de aguacate California (principalmente “fuerte”) por cada 100 g.	7
1.3. Efecto de la fecha de cosecha y grado de madurez sobre contenido de materia seca (% de peso fresco) de aguacate Hass (fruto) en México.	8
1.4. Composición de ácidos grasos, triglicéridos y compuestos menores en aceite de aguacate.	9
1.5. Métodos de extracción de aceite de aguacate.	14
1.6. Consideraciones más importantes del proceso de extracción de compuestos bioactivos utilizando microondas.	34
2.1. Diseño de superficie de respuesta, donde MO es el tiempo de aplicación de microondas en segundos, US el tiempo de aplicación de ultrasonido en minutos y A el nivel de dilución de la muestra.	56
2.2. Condiciones de cada experimento y su representación con letra y número.	57
3.1. Rendimiento y humedad del puré de aguacate.	64
3.2. Análisis de varianza del rendimiento de pulpa de aguacate como factor y rendimiento de aceite (RA) como variable de respuesta.	66
3.3. Análisis de varianza del contenido de humedad de la pulpa de aguacate como factor y rendimiento de aceite (RA) como variable de respuesta.	68
3.4. Módulo de almacenamiento ( $G'$ ), módulo viscoso ( $G''$ ), $\tan\delta$ y viscosidad compleja ( $\eta^*$ ) del puré de aguacate, presentados como control de calidad de materia prima.	71
3.5. Rendimiento de aceite (RA) extraído en cada corrida, con el pH de antes y después de cada tratamiento y el valor del cambio de pH.	74
3.6. Análisis de varianza de $\Delta\text{pH}$ como variable de respuesta y tratamientos de microondas (MO), ultrasonido (US) y dilución (A)	75

como factores.	
3.7. Análisis de varianza del pH de puré de aguacate antes de ser tratado, como factor y rendimiento de aceite (RA) como variable de respuesta.	78
3.8. Distribución de tamaño de partículas por número de modas que presentó cada corrida, donde x es el diámetro ( $\mu\text{m}$ ), Q3 el valor acumulativo (%), $q_3$ la densidad de distribución y s el índice de polidispersidad. A) y B) difieren de lote y para fines comparativos cada uno tiene su muestra control.	80
3.9. Análisis de varianza del tamaño medio de partícula como variable de respuesta y tratamientos de microondas (MO), ultrasonido (US) y nivel de dilución (A) como factores.	83
3.10. Análisis de varianza del índice de polidispersión (s) como variable de respuesta y tratamientos de microondas (MO), ultrasonido (US) y nivel de dilución (A) como factores.	86
3.11. Rendimiento de extracción de aceite (RA) de cada corrida, con su respectivo lote.	88
3.12. Análisis de varianza de rendimiento de aceite (RA) como variable de respuesta en función de tratamientos con microondas (MO), ultrasonido (US) y nivel de dilución (A) como factores.	91
3.13. Análisis de varianza de la viscosidad compleja ( $\eta^*$ ) como factor y rendimiento de aceite (RA) como variable de respuesta.	94
3.14. Humedad (%), rendimiento de pulpa (%) y rendimiento de aceite (RA) (%) de tres métodos de extracción en base húmeda; MO (90 s) es el óptimo obtenido con tratamiento de microondas, Soxhlet es el obtenido por extracción con hexano por el método oficial 920.39 de la AOAC y el tercero el utilizado por Martínez-Padilla <i>et al.</i> (2018) utilizando hexano.	96
3.15. Rendimientos RA (%) y RN (%) de corridas experimentales y de la combinación óptima teórica y experimental (combinación óptima).	97

3.16. Parámetros químicos del aceite de aguacate (AA) extraído bajo diferentes condiciones, microondas (MO), por hexano (HX) y comparación bibliográfica.	100
---	-----

## ÍNDICE DE FIGURAS

	<i>Página</i>
1.1. Representación esquemática del mesocarpio del aguacate durante maduración. (a) Células inmaduras; (b) Células maduras; P, células parénquimas; W, pared de idioblastos; OD, glóbulo de aceite; PP, protoplasma, IO: saco idioblástico de aceite.	13
1.2. Diagrama de bloques: Técnica de separación acuosa para la producción de aceite crudo de aguacate.	16
1.3. Representación de onda sinusoidal.	21
1.4. Diagrama de bloques de proceso para extracción de aceite con solventes, asistida con ultrasonido.	23
1.5. Resonador ultrasónico de media longitud de onda en fluido con partículas suspendidas.	24
1.6. Generación y colapso de burbujas por cavitación.	26
1.7. Evaporación por cambio de presión a temperatura constante.	26
1.8. Representación de colapsos simétrico (a), asimétrico (b) y en forma de dona (c).	27
1.9. Representación de onda electromagnética.	30
1.10. Estructura de una molécula de agua y su representación como dipolo permanente.	31
1.11. Interacción entre campo electromagnético con partículas cargadas y con moléculas dipolares.	32
1.12. Mecanismo de extracción con microondas, sin utilizar solventes.	33
1.13. Perfil de velocidad entre dos placas paralelas.	36
1.14. Curva de flujo de fluidos newtonianos.	38
1.15. Esfuerzo oscilatorio entre placas rectangulares.	40
1.16. Funciones de esfuerzo de entrada, mostrando variaciones en amplitud de frecuencia y esfuerzo: curva 1) $\gamma_0=0.2, \omega = 1 \frac{rad}{s}$ ; curva 2) $\gamma_0=0.1, \omega = 2rad/s$ ; curva 3) $\gamma_0=0.2, \omega=2 rad/s$ .	42

3.1. Intervalos de rendimiento de aceite (RA) en función del rendimiento de la pulpa.	66
3.2. Intervalos de rendimiento de aceite (RA) en función del contenido de humedad del puré de aguacate.	68
3.3. Barrido de deformación en puré de aguacate a 10 rad/s.	69
3.4. Barrido de frecuencia angular en intervalo de 0.1 a 100 rad/s, en puré de aguacate.	70
3.5. Diagrama de Pareto de efectos estandarizados para $\Delta$ pH como variable de respuesta y tratamientos con microondas (MO), ultrasonido (US) y nivel de dilución (A) como factores.	76
3.6. Superficies de respuesta de $\Delta$ pH en función de tratamientos de ultrasonido (US), microondas (MO) y nivel de dilución (A).	76
3.7. Intervalos de rendimiento de aceite (RA) en función del pH inicial de puré de aguacate.	78
3.8. Histograma de distribución del tamaño de partícula de la muestra control B.	82
3.9. Histograma de distribución del tamaño de partícula del experimento H1.	82
3.10. Diagrama de Pareto de efectos estandarizados para tamaño medio de partícula.	84
3.11. Superficie de respuesta del tamaño medio de partícula en función de los tratamientos de microondas (MO), ultrasonido (US) y dilución (A).	84
3.12. Superficie de respuesta de índice de polidispersión (s) en función de tratamientos de microondas (MO), ultrasonido (US) y nivel de dilución (A).	85
3.13. Diagrama de Pareto de efectos estandarizados para el índice de polidispersión (s).	87
3.14. Efectos principales para rendimiento de aceite (RA).	89
3.15. Interacción para rendimiento de aceite (RA).	90
3.16. Diagrama de Pareto de efectos estandarizados para	91

rendimiento de aceite (RA).	
3.17. Superficie de rendimiento de aceite (RA) con respecto a los tratamientos de microondas (MO), ultrasonido (US) y nivel de dilución (A).	92
3.18. Superficie vista desde dos ángulos con rendimiento de aceite (RA) como variable de respuesta en función de tratamientos con microondas (MO) y ultrasonido (US).	93
3.19. Contorno de rendimiento de aceite (RA) en función de tratamientos con microondas (MO) y ultrasonido (US).	93
3.20. Superficie de rendimiento de aceite (RA) como variables de respuesta en función de tratamiento con microondas (MO), nivel de dilución (A) y tratamiento con ultrasonido (US), nivel de dilución (A).	94
3.21. Intervalos de rendimiento de aceite (RA) en función de Viscosidad compleja ( $\eta^*$ ).	95
3.22. Optimización de rendimiento de aceite (RA) por medio del diseño de superficie de respuesta para un valor objetivo de rendimiento de aceite del 17%.	95
3.23. Curva de flujo de ascenso y descenso de velocidad de cizalla, de aceite de aguacate evaluada a 25 °C.	99

## RESUMEN

Con el desarrollo de técnicas avanzadas de producción de alimentos, el reto actual ya no es sólo su elaboración, sino transformarlos mejorando sus características, utilizar todos sus subproductos eficientemente y conservarlos alargando su vida útil sin que se dañen sus características nutricionales y sensoriales. Al mismo tiempo que el proceso global resulte más eficiente energéticamente.

El objetivo del presente estudio fue optimizar utilizando un diseño experimental de superficie de respuesta, el rendimiento de extracción de aceite de aguacate utilizando ultrasonido de baja frecuencia y microondas, para lograr sustituir los métodos tradicionales basados en la extracción con solventes.

Se evaluó el efecto de los tratamientos sobre el tamaño de partícula y pH del puré de aguacate, factores importantes en la separación de aceite, así como su calidad. Se utilizaron aguacates de la variedad Hass maduros de acuerdo con el color y textura del epicarpio. Se determinaron el rendimiento de pulpa de aguacate, la humedad, el pH, reología y tamaño de partícula del puré, así como índices de calidad del aceite extraído.

La extracción con microondas se llevó a cabo con densidad de potencia de 10 W/g. Por otro lado la extracción realizada con ultrasonido se llevó a cabo a densidad de potencia de 2 W/g e intensidad acústica de 31.8 W/cm<sup>2</sup>. Los tratamientos se aplicaron por separado y combinados, en puré de aguacate con y sin dilución en agua. La extracción óptima fue muy cercana a la alcanzada en la extracción con hexano, pero presentando varias ventajas sobre el uso de disolventes y fue lograda con el tratamiento únicamente con microondas en puré de aguacate sin dilución. El aceite obtenido fue de alta calidad, cumpliendo con los estándares establecidos. La cantidad de aceite que no se alcanzó a extraer del aguacate a través del procesamiento por microondas podría ser extraído implementando un proceso posterior, como el ultrasonido de alta frecuencia, que se recomienda en otros estudios.

## INTRODUCCIÓN

El aguacate (*Persea americana Mill*) es actualmente el fruto subtropical/tropical económicamente más importante en el mundo, debido a que contiene más aceite que otras frutas, así como dos o tres veces más proteína (2-4%), tiene el mayor nivel de potasio entre las frutas comunes, altas concentraciones de antioxidantes y cantidades apreciables de vitaminas A, E y B, además de fitoesteroles (Schaffer *et al.*, 2013).

El contenido de aceite en el aguacate puede llegar a ser de 15-30% dependiendo de la variedad (Zhou *et al.*, 2016). La producción tecnológica de aceite de aguacate puede agregar valor económico y lograr un producto adecuado para diversas aplicaciones.

Se ha reportado un rendimiento de extracción de aceite por hexano, previo secado de pulpa de aguacate, de 65% (base seca), mientras que la misma extracción asistida por microondas presentó mayor rendimiento (97%), además de un menor índice de peróxidos, ácidos grasos libres y ácidos grasos trans (Qin y Zhong, 2016). Por otro lado, el rendimiento obtenido por presión de la pulpa seca fue de 80-85% y la extracción con disolventes, tras una fermentación anaerobia de la pulpa que facilita la ruptura celular, produce un rendimiento cerca de 90% (Martínez-Nieto *et al.*, 1992). De igual manera que el microondas, el ultrasonido se ha implementado como coadyuvante en la extracción de aceite aplicado durante el proceso de extracción con solventes (Vinatoru *et al.*, 2017).

Por otro lado, hay pocas investigaciones de extracción con ultrasonido y microondas sin el uso de solventes. En aplicaciones de ultrasonido de alta frecuencia (2 MHz) en puré tratado con y sin malaxado, se observó un incremento en el rendimiento de aceite (2-5%), pudiéndose reducir el tiempo de extracción implementando el tratamiento ultrasónico post-malaxado. Sin embargo, la aplicación de ultrasonido a bajas frecuencias redujo la calidad del aceite extraído

(comparado con el obtenido por altas frecuencias), presentando un mayor índice de peróxidos que el máximo permitido para aceite de olivo en el estándar australiano 5264-2011 (20 meqO<sub>2</sub>/kg) y un menor contenido de fenoles totales (Martínez-Padilla *et al.*, 2018).

En cuanto a la aplicación de microondas, muchas clases de compuestos han sido separados eficientemente de materiales crudos, principalmente de origen vegetal. En este tipo de proceso, el agua de las células es calentada debido a su interacción con el campo eléctrico, lo que provoca un incremento en la presión al interior de las células, rompiendo las paredes celulares y liberando las moléculas de interés (Vinatoru *et al.*, 2017).

Las propiedades viscoelásticas de puré de aguacate son importantes para la extracción de aceite y son dependientes del proceso mecánico o manual de preparación. En estudios recientes se observó un predominio del módulo elástico sobre el viscoso, incluso en puré con humedad arriba del 93.5%. El tratamiento mecánico produjo valores menores de ambos módulos, debido a la mayor ruptura del tejido del fruto y producción de partículas más pequeñas y uniformes (Martínez-Padilla *et al.*, 2017). Por otro lado Zhou *et al.* (2016) mostraron que el tiempo de tratamiento con microondas (11 W/g) no tuvo efecto en la viscosidad evaluada a 100 rad s<sup>-1</sup> en puré de aguacate sin aceite.

Se ha señalado que el tamaño de partícula de las células rotas es el factor más importante para la extracción de aceite de puré diluido (Qin y Zhong, 2016), por lo que para asegurar alto rendimiento de extracción las células del aguacate, éstas deben ser destruidas intensamente. Se ha observado también que el ultrasonido de alta y baja frecuencia incrementa el valor de ambos módulos viscoelásticos (Martínez-Padilla *et al.*, 2017), mientras que el tiempo de tratamiento con microondas (11 W/g) no tuvo efecto significativo en la viscosidad de puré de aguacate desgrasado, ni en el tamaño de partícula, el cual se mantuvo entre 20-200 µm (Zhou *et al.*, 2016).

Es importante mencionar que el procesamiento de extracción influye en las propiedades del aceite de aguacate, por ejemplo, el aceite extraído por tratamientos de ultrasonido y malaxado, resultó con una viscosidad alrededor de 60 mPa s (Martínez-Padilla *et al.*, 2018), contrastado con el aceite extraído por prensado, previo tratamiento enzimático cuya viscosidad fue de 43 mPa s (Schwartz *et al.*, 2007).

Por lo anterior, en la presente investigación se busca sustituir los métodos tradicionales de extracción con solventes por los métodos basados en tecnologías emergentes y evaluar las propiedades del aceite extraído, ya que con el desarrollo de las técnicas avanzadas de producción de alimentos, el reto ya no es sólo la elaboración de alimentos y su conservación, sino que no se dañen sus características nutricionales y sensoriales, al mismo tiempo que el proceso global resulte más eficiente energéticamente (Raventós, 2005).

## CAPÍTULO I. ANTECEDENTES

### 1.1 Aguacate

El árbol de aguacate (*Persea americana Mill.*) es un miembro de la familia Lauraceae. Es actualmente el fruto subtropical/tropical económicamente más importante en el mundo, debido a que contiene más aceite que otras frutas, así como dos o tres veces más proteína (2-4%), tiene el mayor nivel de potasio entre las frutas comunes (igual o mayor que el de plátano), altas concentraciones de antioxidantes y cantidades apreciables de vitaminas A, E y B (Schaffer *et al.*, 2013). En el cuadro 1.1 se muestra la composición de vitaminas presentes en la pulpa de aguacate.

El alto consumo de aguacate ha sido ligado al conocimiento del consumidor sobre sus efectos en la reducción de lipoproteínas de baja densidad (colesterol malo) y al incremento en los niveles de lipoproteínas de alta densidad (colesterol bueno) (Schaffer *et al.*, 2013).

Cuadro 1.1. Contenido de vitaminas en pulpa de aguacate (Schaffer, 2013).

Componente (por cada 100 g base húmeda)	Intervalo de concentración
β-caroteno (pro-vitamina A) (IU)	370-750
α-tocoferol (vitamina E) (IU)	1.6-2.4
Ácido ascórbico (vitamina C) (mg)	1.6-30
Biotina (μg)	3.2-10
Colina (mg)	17-22
Folacina (μg)	30-62
Niacina (mg)	1.4-3.5
Ácido pantoténico (mg)	0.25-1.14
Piridoxina (vitamina B6) (mg)	0.22-0.62
Riboflavina (vitamina B6) (μg)	95-230
Tiamina-HCl (vitamina B1) (μg)	60-240
Fitol menaquinona (vitamina k) (μg)	0-8
Calciferoles (vitamina D)	No reportado

Los beneficios a la salud por el consumo de aguacate son numerosos e incluyen disminución del riesgo de padecer enfermedad coronaria, cataratas, diabetes, hipertrofia prostática benigna, cáncer de próstata y de otros tipos, además de degeneración macular relacionada con la edad. Algunos de estos beneficios parecen estar vinculados a los pigmentos en la pulpa de aguacate, incluyendo clorofila, carotenoides, antocianinas y otros fitoquímicos (Schaffer *et al.*, 2013).

De acuerdo con lo reportado en el Cuadro 1.2, la humedad del aguacate es cerca de 73.6% y de acuerdo con el Cuadro 1.3, este valor de humedad es resultado del grado de madurez y del mes de cosecha del fruto de aguacate, en promedio se tiene una humedad de 65.3%, cuando el grado de madurez del aguacate es alto, de acuerdo al ennegrecimiento del epicarpio. Al relacionar el grado de madurez con la humedad, es posible realizar una selección de frutos con el grado de madurez deseada, únicamente determinando el porcentaje de agua presente en el aguacate.

El grado de madurez se encuentra directamente relacionado con el rendimiento de pulpa de aguacate, pensando en los cambios bioquímicos que sufre un fruto durante toda su vida. Por un lado, se encuentra el aguacate inmaduro cuya estructura firme, debida a la gran cantidad de polisacáridos, dificulta la obtención de la pulpa, fuertemente adherida a la piel del fruto y que por su solidez se dificulta en muchos casos su tratamiento. Por otro lado, el fruto muy maduro comienza a mostrar señales de senescencia, lo que reduce la cantidad de pulpa comestible ya que la energía que produce durante su respiración para sobrevivir, proviene de la oxidación de las propias reservas de almidón, azúcares y otros metabolitos y conforme disminuyen dichas reservas, la vida postcosecha se reduce como consecuencia (FAO, 1987).

Cuadro 1.2. Composición de la porción comestible de aguacate California (principalmente “fuerte”) por cada 100 g (Schaffer *et al.*, 2013).

Agua (g)	73.6
Contenido energético (kcal)	171.0
Macronutrientes (g)	
Proteínas	2.2
Lípidos	17.0
Carbohidratos totales	6.0
Fibra	1.5
Minerales (mg)	
Calcio	10.0
Fósforo	42.0
Hierro	0.6
Sodio	4.0
Potasio	604.0
Vitaminas (IU para A o mg)	
A	290.0
Ácido ascórbico	14.0
Tiamina	0.1
Riboflavina	0.2
Niacina	1.6

## 1.2 Aceite de aguacate

El lípido extraído del mesocarpio de la pulpa de aguacate es preferido sobre el de la semilla. La semilla de aguacate contiene poco aceite (alrededor del 2%), y tiene algunos factores tóxicos (como agentes hepatotóxicos) que causan algunas alteraciones metabólicas relacionadas con el crecimiento de grasas, como la aceleración de la lipogénesis hepática y elevación del nivel de enzimas involucrado en la biosíntesis lipídica. Así, la mayoría del aceite de aguacate comercial es extraído de la pulpa. El contenido de aceite en el aguacate puede llegar a ser hasta 30% dependiendo de la variedad, además contiene una cantidad importante de compuestos benéficos para la salud, como antioxidantes, vitaminas y fitoesteroles (Qin y Zhong, 2016).

Cuadro 1.3. Efecto de la fecha de cosecha y grado de madurez sobre contenido de materia seca (% de peso fresco) de aguacate Hass (fruto) en México (Osuna-García *et al.*, 2010).

Grado de madurez	Mes de cosecha						Promedio
	Octubre	Diciembre	Enero	Febrero	Marzo	Abril	
1: Totalmente verde	20.5 a	29.8 a	29.5 c	31.6 b	33.8 c	31.7 c	29.5 d
2: ≤25% piel ennegrecida	-	30.6 a	30.2 c	33.1 ab	35.0 bc	32.0 c	32.9 c
3: 26-50% piel ennegrecida	-	-	33.7 ab	33.0 ab	36.3 ab	33.6 bc	34.1 b
4: 51-75% piel ennegrecida	-	-	31.7 bc	34.5 a	35.4 bc	35.0 ab	34.1 b
5: >75% piel ennegrecida	-	-	34.3 a	33.2 ab	38.2 a	35.9 a	34.7 a
Promedio	20.5 C	30.2 C	31.9 C	33.1 B	35.7 A	33.7 AB	-
Los valores en las columnas, con las mismas letras, son estadísticamente iguales (Waller-Duncan $P \leq 0.05$ ).							
Los valores en el último renglón, con las mismas letras mayúsculas, son estadísticamente iguales (Waller-Duncan $P \leq 0.05$ ).							

El total de lípidos extraídos del mesocarpio incluyen lípidos neutros, glucolípidos y fosfolípidos. Entre el contenido total de lípidos, más del 95% son lípidos neutros (de los cuales el 87% fueron triglicéridos). El Cuadro 1.4 proporciona la composición de triglicéridos, la composición total de ácidos grasos de aceite de aguacate y sus compuestos liposolubles. Se presentan dos muestras, debido a que Qin y Zhong (2016) recopilaron la información de diferentes autores.

La composición de ácidos grasos puede cambiar dependiendo de la variedad, madurez, ubicación geográfica del cultivo, así como del método de extracción. El aceite de aguacate es caracterizado por su alto contenido de ácidos grasos monoinsaturados (ácido oleico >50%), similar al aceite de oliva. El ácido palmítico es el principal ácido saturado y el ácido linoleico es el principal poliinsaturado presente en aceite de aguacate (Qin y Zhong, 2016).

Cuadro 1.4. Composición de ácidos grasos, triglicéridos y compuestos menores en aceite de aguacate (Qin y Zhong, 2016).

Componente	Aceite de aguacate		
	Muestra 1	Muestra 2	
Composición de ácidos grasos (%)	C16:0	12.8	13.4
	C16:1	3.3	3.8
	C18:0	1.0	0.6
	C18:1	67.7	65.4
	C18:2	13.5	15.2
	C18:3	1.2	1.3
	C20:0	0.2	0.1
	C20:1	0.3	0.2
Composición de triglicéridos (%)	LLLn	1.2	1.2
	OLL	5.4	2.3
	PLL	2.2	2.6
	OOL	20.2	9.75
	POL	13.2	18.0
	PPL	-	2.4
	OOO	29.0	16.1
	POO	22.4	27.4
	PPO	2.8	10.9
	OOS	0.4	1.3
Clorofilas (mg/kg)	22.3	69.8	
Carotenoides (mg/kg)	11.1	46.9	
$\alpha$ -Tocoferol (mg/kg)	40.5	103.5	
Fitoesteroles totales (mg/kg)	3396.4		

O: oleico; P: palmítico; L: linoleico; Ln: linolénico; S: esteárico.

El aceite de aguacate es rico en antioxidantes liposolubles y fitoquímicos bioactivos, especialmente carotenoides (principalmente luteína), tocoferoles (principalmente vitamina E) y fitoesteroles (principalmente  $\beta$ -sitosterol), son tres de los más importantes compuestos liposolubles, que tienen efectos positivos a la salud (Zhou *et al.*, 2016). Propiedades del aceite incluye cicatrización de heridas y hepatoprotección (Schaffer *et al.*, 2013).

### 1.3 Puré de aguacate

El puré de aguacate es el alimento obtenido de las variedades comerciales de aguacates, la pulpa puede ser diluida con agua potable y homogeneizarse (Martínez-Padilla *et al.*, 2017), pudiendo adicionarse sal (NaCl), ácido cítrico y ácido ascórbico (Tabilo-Munizaga *et al.*, 2005) y envasado en recipientes sanitarios, de cierre hermético y sometidos a proceso térmico antes o después de cerrado para asegurar su conservación (NMX-F-033-1982, CODEX STAN 197-1995).

Los aguacates utilizados para la elaboración de puré deben cumplir con los requisitos mínimos establecidos por el CODEX STAN 197-1995. Algunos de los cuales incluyen:

- Estar enteros, sanos (sin podredumbre o deterioro), exentos de plagas, etc.
- El desarrollo y condición de los aguacates deberán ser tales que les permitan: soportar el transporte y la manipulación y llegar en estado satisfactorio al lugar de destino.
- Los frutos deberán alcanzar un contenido mínimo de materia seca en la cosecha, según variedad, medida por secado a peso constante: 21% para la variedad Hass.

Un problema muy importante que se presenta en el aguacate es la oxidación. La autooxidación de lípidos, así como la oxidación enzimática durante el almacenamiento y procesamientos es la principal reacción de grasas, aceites y alimentos con alto contenido de éstos, es responsable del deterioro de la calidad del alimento, afecta al color, sabor, textura y especialmente al valor nutritivo (Matthäus, 2002).

Por un lado, cuando el aguacate es procesado (para su transformación en puré), el tejido sufre ruptura y libera el contenido celular, incluyendo la enzima polifenol oxidasa y sus sustratos (compuestos fenólicos), consecuentemente se produce la formación de pigmentos color café, por lo que la inactivación enzimática se vuelve

esencial para mantener su calidad (Zhou *et al.*, 2016). El hecho de que este cambio no se efectúe en las células intactas indica que existe un microambiente anaeróbico dentro del fruto que inhibe el mecanismo y que, además, la enzima y el sustrato se encuentran en compartimentos celulares separados (Badui, 2012).

Por otro lado, también existe actividad enzimática hidrolítica (lipasas), la cual causa la hidrólisis de los enlaces éster-ácido graso en los triglicéridos, dando como resultado ácidos grasos libres, diacilgliceroles, monoacilgliceroles y glicerol. La liberación de los ácidos grasos facilita y acelera las reacciones de auto-oxidación puesto que los radicales libres los atacan más fácilmente que a los triglicéridos. Ambos procesos (auto-oxidación y oxidación enzimática) dan como resultado la rancidez de puré de aguacate durante su almacenamiento (Jacobo-Velázquez *et al.*, 2013). Un alto nivel de clorofila puede tener un efecto negativo en la estabilidad oxidativa del aceite crudo del aguacate debido a su fácil fotooxidación cuando es expuesto a luz y oxígeno (Qin y Zhong, 2016). La lipooxigenasa afecta la calidad destruyendo los ácidos grasos esenciales, co-oxidando carotenoides y posteriormente generando malos olores y sabores.

Los antioxidantes son capaces de prevenir las reacciones oxidativas en cadena de los radicales libres, frenando los pasos de iniciación y propagación, lo cual provoca la finalización de la reacción y un retraso de las reacciones de degradación. Durante finales de 1940 fue descubierta la capacidad de los compuestos fenólicos para inhibir la oxidación lipídica, esto llevó a la aplicación de antioxidantes sintéticos en la industria alimenticia. Sin embargo, los antioxidantes sintéticos como el tert-butil-hidroxiasinol (BHA) o tert-butil-metilfenol (BHT) tienen algunas desventajas críticas debido a que son altamente volátiles, inestables a temperaturas elevadas, están restringidos por algunas normas y más importante, son objeto de estudio por sus probables propiedades tóxicas. Por lo que los consumidores generalmente prefieren antioxidantes naturales para la estabilización de grasas y aceites comestibles contra la rancidez oxidativa (Matthäus, 2002).

Los tocoferoles son los antioxidantes naturales más ampliamente aplicados. Sin embargo, desde hace varios años, los flavonoides han sido también puestos bajo investigación para ser utilizados como antioxidantes naturales en la conservación de alimentos. La habilidad de dichos compuestos para actuar como antioxidantes está basada en el hecho de que son capaces de deslocalizar electrones impares, estabilizando al radical fenoxil formado en la reacción con los radicales lipídicos. Estas propiedades permiten a la molécula actuar como agente reductor, donador de hidrógeno y extintor de oxígeno singlete. Las moléculas tienen también potencial de quelación de metales. La mayor parte de los tocoferoles y parte de los fosfolípidos son removidos en la extracción de aceite, parte de los compuestos fenólicos permanecen en el residuo libre de lípidos. Desde un punto de vista económico, los residuos pueden ser atractivas fuentes de diferentes sustancias bioactivas como glucosinolatos o compuestos fenólicos, los cuales son retenidos en cantidades significantes y su extracción puede ser considerada, debido a que adicionan valor a los residuos, lo cual puede justificar su aislamiento. Se encuentra disponible una importante cantidad de estudios de actividad antioxidante de extractos obtenidos de los residuos del proceso de extracción de aceite (Matthäus, 2002).

#### **1.4 Métodos tradicionales de extracción de aceite**

Hay muchas investigaciones enfocadas en la producción tecnológica de aceite de aguacate, con el propósito de agregar valor económico, logrando un adecuado producto para diversas aplicaciones. Generalmente, el aceite crudo puede ser obtenido por técnicas de centrifugación, presión y extracción con solventes. Los lípidos son encontrados principalmente en el mesocarpio del aguacate el cual está compuesto de numerosas células parénquimas e incluso idioblastos dispersos.

Las células parénquimas contienen glóbulos de aceite finamente emulsificados y los idioblastos están llenos con un gran saco de aceite. Las células idioblásticas tienen un diámetro promedio de 75  $\mu\text{m}$  y paredes celulares delgadas, comparadas

con las células parénquimas. Las paredes primarias de las células parénquimas pueden ser degradadas por la actividad de celulasa y poligalacturonasa durante la maduración, pero las paredes suberificadas de las células idioblásticas se mantienen intactas debido a su inmunidad ante la actividad de estas enzimas (Qin y Zhong, 2016), como se muestra en la Figura 1.1.

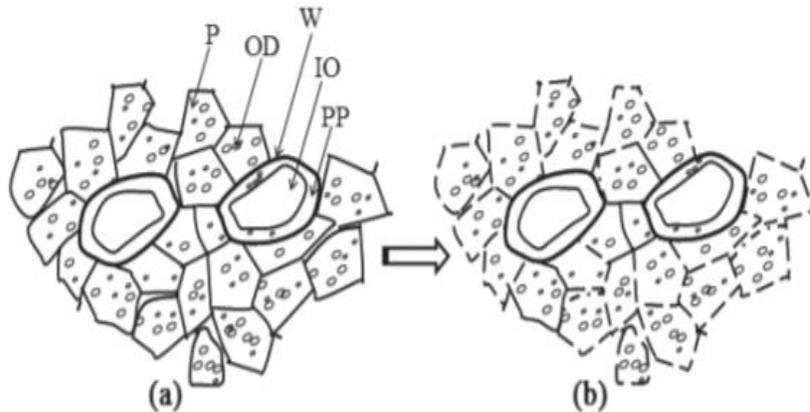


Figura 1.1. Representación esquemática del mesocarpio del aguacate durante maduración. (a) Células inmaduras; (b) Células maduras; P, células parénquimas; W, pared de idioblastos; OD, glóbulo de aceite; PP, protoplasma, IO: saco idioblástico de aceite (Qin y Zhong, 2016).

Para incrementar la liberación de aceite de los cuerpos celulares y mejorar la extracción, son utilizados procesos extractivos con pretratamientos mecánicos, enzimáticos y térmicos para lograr la ruptura de la estructura de la emulsión y las paredes celulares. Diversos métodos de extracción para la recuperación de aceite de aguacate son mostrados en el Cuadro 1.5.

Cuadro 1.5. Métodos de extracción de aceite de aguacate (Qin y Zhong, 2016).

Método	Resultado	Conclusiones
Centrifugación asistida mecánicamente: aguacate fresco->pulpa->pulpa diluida y molida->puesta en condiciones adecuadas->centrifugación->aceite crudo (sobrenadante)	Rendimiento de 75.3%, bajo condiciones óptimas: 75 °C, pH 5.5 y 5% de NaCl	La adición de sales inorgánicas (como NaCl, CaCO <sub>3</sub> , CaSO <sub>4</sub> ) favorece la separación de aceite de la emulsión por medios físicos
Separación con agua caliente: pulpa de aguacate-> pasta diluida-> homogeneización con licuadora-> homogeneización con alta presión-> calentamiento->aceite crudo (capa superior)	El rendimiento de extracción de aceite incrementa de 21.4% a 23.2% con el incremento de la presión de homogeneización de 7 a 176 kg/cm <sup>2</sup>	El uso de la homogeneización para un mejor rompimiento de la emulsión O/W permite incrementar el rendimiento de aceite extraído pero también incrementa el índice de yodo y la cantidad de ácidos grasos libres
Estrujado asistido por microondas: pulpa de aguacate->tratamiento con microondas->estrujado/presurizado de la pulpa->aceite crudo	Rendimiento de 65.2% fue obtenido con energía de microondas de 1.8 kJ/g y tiempo de exposición de 11 min	Diferentes métodos de extracción conduce modificaciones de características físicas y químicas de aceite de aguacate
	El contenido de ácidos grasos libres, índice de peróxido y ácidos grasos trans del aceite crudo fueron 0.65%, 10.68 meq/kg y 0.29%, respectivamente	El método de extracción de aceite con hexano asistido por microondas provee el más alto rendimiento y la menor modificación de las características del aceite
Extracción con hexano: pulpa de aguacate ->secado (70 °C, ≤100 mmHg) hasta 27% de humedad->extracción (Método Soxhlet)	Rendimiento de extracción de 54%. El contenido de ácidos grasos libres, índice de peróxido y ácidos grasos trans en el aceite crudo fueron 0.65%, 10.68 meq/kg y 0.3%, respectivamente	En general se presentó un menor deterioro en el aceite tratado con microondas en lugar de con solventes
Extracción con hexano asistida por microondas: pulpa de aguacate->pasta-> calentamiento con microondas-> extracción (Método Soxhlet)	Rendimiento de 97%. El contenido de ácidos grasos libres, índice de peróxido y ácidos grasos trans de aceite crudo fueron 0.277%, 9.55 meq/kg y 0.09%, respectivamente	

Cuadro 1.5. Métodos de extracción de aceite de aguacate (Qin y Zhong, 2016)  
(continuación).

Extracción con acetona: pulpa de aguacate->partículas pequeñas->extracción con acetona pura a 25 °C (primera extracción)->extracción con acetona pura a 55 °C (segunda extracción)	Rendimiento de extracción de 12%. El contenido de ácidos grasos libres, índice de peróxido y ácidos grasos trans de aceite crudo fueron 2.84%, 12.74 meq/kg y 0.45%, respectivamente	
Extracción con hexano (Método Soxhlet)	La extracción Soxhlet brindó los resultados más reproducibles (6.5±0.24 g/kg y 6.4±0.20 g/kg en base seca para variedades Hass y Fuerte, respectivamente)	SC-CO <sub>2</sub> es más favorable para producir aceite para las industrias alimenticia y farmacéutica, debido a que el método es libre de solventes
Extracción con baño ultrasónico: aguacate seco->sonicación en baño de agua (60 °C) con hexano por 1 hora		
Extracción con hexano asistida por microondas: pasta de aguacate->tratamiento con microondas->polvo fino ->extracción con hexano por método Soxhlet	La extracción con hexano asistida por microondas tuvo el más alto rendimiento de aceite (7 g/kg peso seco) de la variedad Hass	Las técnicas de extracción con SC-CO <sub>2</sub> y la asistida con microondas son viables para ser aplicadas en producción a gran escala
Extracción con fluido supercrítico: 5.0 g de aguacate seco cargado en un extractor de 10.0 g->extracción por 2 horas con flujo de 2.8-3.5 mL/min de SC-CO <sub>2</sub>	Aceites obtenidos de SC-CO <sub>2</sub> tuvieron un amplio rango de ácidos grasos y la menor cantidad de metales oxidantes como Fe y Cu	

#### 1.4.1 Separación acuosa

La extracción acuosa es un proceso tradicional usado para recuperar aceite de fuentes vegetales. Dicha separación de aceite de aguacate es mejorada por destrucción del tejido celular que contiene los lípidos, por métodos enzimáticos o mecánicos, seguido de centrifugación o por medio de gravedad para separar el aceite de la emulsión aceite-agua. De acuerdo con la manera de destruir las paredes celulares y la fuerza utilizada para separar la fase oleosa, los métodos acuosos pueden ser principalmente divididos en tres grupos: 1) separación

centrífuga asistida enzimáticamente, 2) separación centrífuga asistida mecánicamente y 3) métodos de separación con agua caliente asistidos mecánicamente, como se muestra en la Figura 1.2.

De acuerdo con el primer método, la extracción de aceite de aguacate es en primer lugar realizado al degradar las paredes celulares con enzimas exógenas y utilizando fuerza centrífuga para separar el aceite de las otras fases (acuosa, aceite y residuos de la fruta). Mientras que, en el segundo y tercer método, la destrucción de las paredes celulares es por fuerza mecánica. Una de las excepcionales ventajas de las técnicas de separación acuosa es que no se tiene la necesidad de remover una gran cantidad de agua de la pulpa fresca, comparado con los procesos de extracción con solventes o presión.

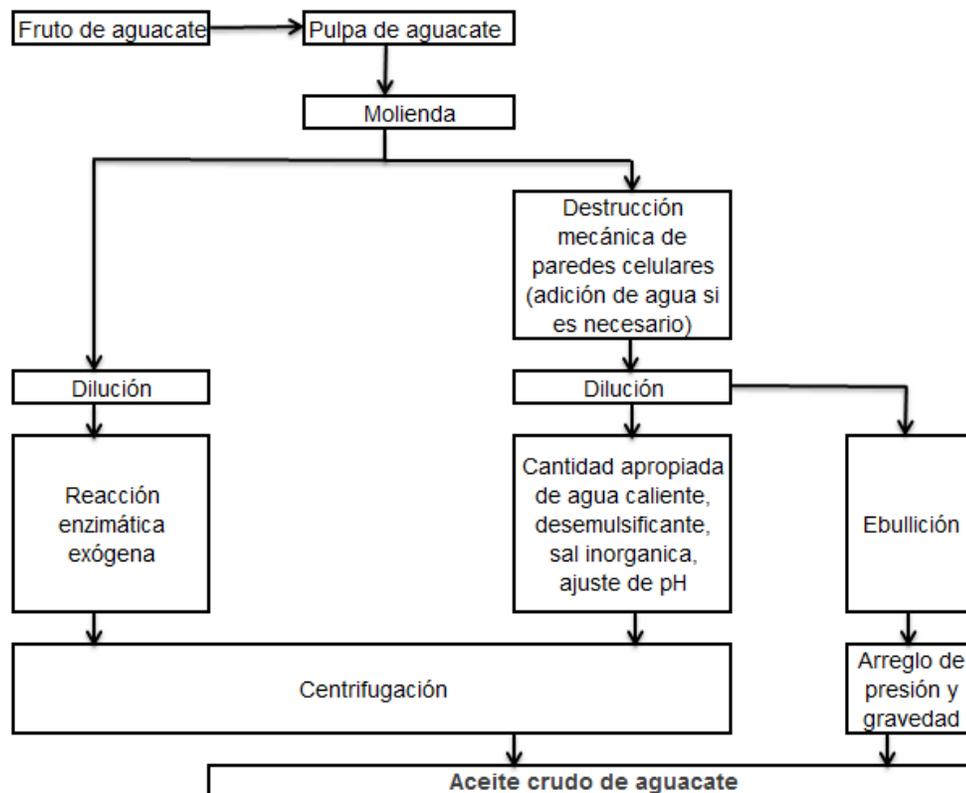


Figura 1.2. Diagrama de bloques: Técnica de separación acuosa para la producción de aceite crudo de aguacate (Qin y Zhong, 2016).

La técnica de separación acuosa es práctica debido a su simple operación y bajo costo, comparada con otros métodos de extracción de aceite (como extracción con solventes orgánicos). Además, el beneficio de utilizar fuerza centrífuga para separar recae en el producto de alta calidad y alta pureza resultante, el cual simplifica grandemente el posterior proceso de refinación (Qin y Zhong, 2016).

En cuanto al método de extracción con centrifugación asistida mecánicamente, las células del aguacate que contienen los glóbulos de aceite son destruidas por fuerza mecánica (como al triturar con un mortero), liberando el aceite por fuerza centrífuga. El tamaño de partícula de las células rotas es considerado como el factor más importante sobre otros (como concentración de la pulpa, temperatura de calentamiento, concentración electrolítica y fuerza centrífuga) para extracción de aceite del puré diluido. Para asegurar alto rendimiento de extracción, las células parénquimas e idioblásticas del aguacate pueden ser destruidas intensamente, produciendo partículas con tamaño pequeño. De cualquier forma, la molienda fina es requerida para un buen control (Qin y Zhong, 2016).

Debido a que el aceite liberado puede emulsificar fácilmente con el agua y otros sustratos celulares, se dificulta la separación del aceite de la mezcla durante el proceso de centrifugación. Para prevenir o reducir la emulsificación del aceite, puede ser agregada una cierta cantidad de agente desemulsificante al puré, el ajuste de pH de la mezcla acuosa y un apropiado calentamiento son incluidos antes de centrifugar. Bizimana *et al.* (1993) reportaron recuperación de aceite mayor a pH de 5.5 (71.45%) que a pH de 4.0 (65.77%). La adición de sales (NaCl, CaCO<sub>3</sub> y CaSO<sub>4</sub>) promueve la separación del aceite y el agua (Qin y Zhong, 2016).

Debe ser señalado que la actividad de lipooxigenasa endógena puede seguir presente en el aceite crudo extraído por centrifugación asistido mecánicamente sin un apropiado calentamiento. Esta enzima puede degradar ácidos grasos insaturados, lo cual afecta la calidad del aceite y sus propiedades nutrimentales.

Cuando se aplica un moderado calentamiento antes de la centrifugación, se aplican tratamientos adicionales para reducir la actividad lipooxigenasa en el aceite crudo. Uno de dichos tratamientos es la utilización de campos eléctricos (Qin y Zhong, 2016).

La fruta de aguacate contiene por sí misma enzimas endógenas pectolíticas, celulíticas y lipolíticas. Las enzimas lipolíticas provocan hidrólisis del aceite y oxidación, especialmente bajo sus condiciones óptimas de temperatura. Por lo que la pulpa de aguacate se diluye generalmente con agua caliente, mejorando la liberación del aceite de la mezcla e inactivando enzimas lipolíticas. En el proceso de separación utilizando agua caliente, el puré diluido es generalmente calentado a alta temperatura (100-105 °C) para separar el aceite. Sin embargo, una alta temperatura (105 °C) no es suficiente para separar la emulsión aceite en agua. Ya que las proteínas y carbohidratos presentes en el aguacate pueden mejorar la estabilidad de la emulsión (Qin y Zhong, 2016).

#### **1.4.2 Extracción por solventes**

La extracción con solventes orgánicos es el método más común para separar aceite de diversas fuentes, en este método el aguacate es rebanado, secado y molido, posteriormente el aceite es extraído con solventes orgánicos. Los solventes más comunes son hexano y acetona. Se han reportado rendimientos de 54% por hexano y 12% por acetona. La interacción de los solventes con las células provoca las diferencias en el rendimiento de extracción, por un lado el hexano provoca formas irregulares y ásperas en las células idioblásticas y parénquimas, mientras que con acetona, se observa una gran deformación en la estructura celular lo que provoca que la mayor parte del aceite sea retenida en las células idioblásticas. Por lo tanto, un rendimiento alto de extracción de aceite puede ser logrado utilizando un solvente apropiado, esta técnica tiene algunos inconvenientes como la contaminación ambiental y los residuos de solvente en los productos finales, lo cual limita el uso de aceite de aguacate en alimentos y aplicaciones farmacéuticas (Qin y Zhong, 2016).

La extractabilidad y calidad del aceite de aguacate pueden ser afectadas por factores como la madurez y humedad de la pulpa y su correspondiente método de secado. Las enzimas hidrolíticas como la poligalacturonasa y celulasas en la fruta de aguacate degradan las paredes celulares durante la maduración, como resultado el tejido celular es suave y más caminos son creados para el acceso del solvente a las células parénquimas. La alta humedad de la pulpa interfiere con la extracción del aceite, por lo que es necesario reducir el contenido de humedad antes de la extracción con solventes (Qin y Zhong, 2016).

La calidad o estabilidad oxidativa del aceite extraído de un aguacate maduro o inmaduro está altamente relacionada con el método de secado. La actividad de la lipasa puede seguir presente en aguacate secado por liofilización. Para la industria, sin embargo, otros factores como el costo y la eficiencia de los métodos de secado y la concentración de compuestos como carotenoides, clorofila, tocoferoles, etc. en el aceite deben ser tomados en cuenta cuando es considerada la calidad y estabilidad oxidativa del aceite (Qin y Zhong, 2016).

#### **1.4.3 Comparación entre varios métodos de extracción**

Un método de extracción adecuado depende no solamente del rendimiento de extracción sino también de la composición química y calidad del aceite. Muchos métodos han sido propuestos para extraer aceite de la pulpa de aguacate y ha sido investigada la eficiencia de varias técnicas de extracción. Se ha reportado que los métodos de compresión y extracción con hexano asistidos con microondas proporcionan niveles más bajos de propiedades químicas como contenido de ácidos grasos libres e índice de peróxido comparados con extracciones con hexano o acetona. Se observaron diferencias importantes en el perfil de ácidos grasos de aceite extraído con diferentes métodos de extracción, específicamente ácidos palmítico, palmitoleico (cis), oleico (cis), linoleico (cis) y linolénico (cis). Esto puede ser relacionado con la diferencia de solubilidad de los diferentes ácidos grasos en acetona y hexano. Entre estos métodos de extracción, la concentración total de ácidos grasos trans fue más baja cuando se utilizó la técnica de

compresión asistida con microondas. Otro estudio demostró que el mayor rendimiento de extracción de aceite de aguacate Hass fue obtenido por extracción con hexano asistida con microondas (7 g/kg en peso seco) comparado con hexano (6.5 g/kg peso seco) (Qin y Zhong, 2016).

Se encuentra abundante bibliografía en la extracción de aceite de aguacate a escala de laboratorio, generalmente por uso de disolventes, pero son pocas las referencias a otros procedimientos de extracción que se hayan llevado a escala industrial. En este sentido Martínez-Nieto *et al.* (1992) destacan las publicaciones de diversos autores, en una de ellas se comparan los rendimientos de la extracción por disolventes previo secado (95%) con el obtenido por presión de la pulpa seca (80-85%). Otra en donde se extrajo con disolventes, tras una fermentación anaerobia de la pulpa, para facilitar la ruptura celular obteniendo rendimientos próximos al 90%. También se han obtenido rendimientos cercanos al 80% por presión y sucesiva filtración, además se propone un método de extracción por presión, decantación y posterior centrifugación de la fase oleosa. Por otro lado, se comparan los rendimientos obtenidos por extracción con disolventes en pulpa seca (73%) o liofilizada (85%), con los obtenidos por presión a 350 atm (73%) y los obtenidos por centrifugación con adición de sal en el que se obtiene un rendimiento más bajo (55%). Desde el punto de vista de la maquinaria industrial propiamente dicha, se encuentra poca bibliografía. Únicamente se hace referencia a una publicación donde se utilizó un sistema continuo PIERALISIS para extracción de aguacate deshuesado, con piel, previa laminación y adición de agua se mantiene en batidora en caliente con ajuste de pH. Se centrifuga la mezcla aceite-agua. Partiendo de masa batida con el 20% de agua adicional se obtienen los mejores resultados a 60 °C y 30 minutos de batido a pH 4, obteniéndose un aceite de buena calidad con un 0.3% de acidez, índice de peróxidos 7.3 y con rendimiento del 76% respecto de la cantidad total de aceite extraíble por hexano (Martínez-Nieto *et al.*, 1992).

## 1.5 Extracción de aceite asistida por ultrasonido

El ultrasonido consta de ondas elásticas cuya frecuencia se transmite sobre el umbral del oído humano (aproximadamente 20 kHz). Las ondas ultrasónicas se definen por medio de distintos parámetros como la amplitud (A), definida como el valor máximo que toma una magnitud oscilante en un semiperiodo; el coeficiente de atenuación ( $\alpha$ ), el cual da el valor de la disminución de la amplitud de onda a medida que viaja a través del material, generando un esparcimiento que se da generalmente en materiales heterogéneos; la velocidad ultrasónica ( $v$ ), definida como la velocidad con la que la onda se propaga a través del medio, siendo mayor en sólidos que en fluidos. La frecuencia ( $f$ ), referida al número de oscilaciones o vibraciones de un movimiento por unidad de tiempo; la longitud de onda ( $\lambda$ ), que es la distancia de dos partículas cualesquiera, que estén en la misma fase; y la impedancia acústica, que determina la fracción de la onda ultrasónica que es reflejada de la superficie. La influencia del medio en estos parámetros es la base de la mayoría de las aplicaciones del ultrasonido en alimentos y procesos alimenticios (Gómez-Díaz y López-Malo, 2009), la Figura 1.3 muestra algunos de estos parámetros.

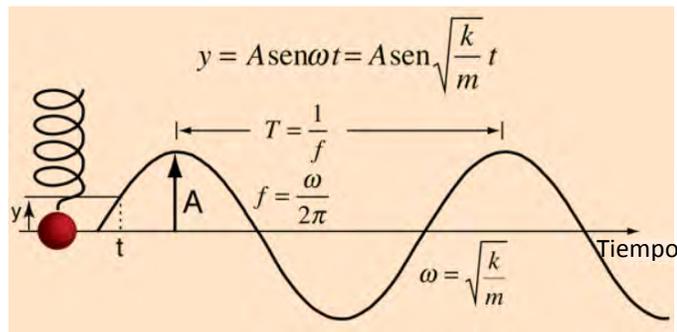


Figura 1.3. Representación de onda sinusoidal (Hyperphysics, 2017).

Ondas estacionarias de ultrasonido son creadas por la superposición de una onda incidente, viajando desde el transductor y una onda reflejada moviéndose desde el reflector, dichas ondas se mueven a la velocidad del sonido en el medio de forma longitudinal, cuando el ultrasonido es transmitido en un fluido dentro de una cámara y las paredes de la cámara actúan como reflectores, la superposición de las ondas

incidente y reflejada forman las ondas estacionarias. Los planos o regiones donde las superposiciones son destructivas son llamados nodos. Las regiones donde la superposición es constructiva son llamadas antinodos, esto es, donde las amplitudes de presión máximas son alcanzadas (Trujillo *et al.*, 2014).

Las partículas y glóbulos suspendidos experimentan una fuerza acústica primaria que las mueve a través de los nodos o antinodos de presión de la onda estacionaria, dependiendo de las propiedades del material. Cuando las partículas y/o glóbulos se mueven juntos forman bandas y pueden agregarse o coalescer. Entonces, debido al radio hidrodinámico, las fuerzas de flotación pueden separar las fases a tasas mayores que la sedimentación y/o cremado. La fuerza acústica primaria decrece con el decrecimiento del tamaño de partícula pero incrementa al aumentar la frecuencia. Por lo tanto, para separar eficientemente partículas con tamaños de unos pocos micrómetros, es recomendable utilizar frecuencias mayores a 1 MHz (Trujillo *et al.*, 2014).

Leong *et al.* (2013) han identificado tres regiones de acuerdo a la frecuencia del ultrasonido: la primera región, donde las frecuencias están entre 20 y 100 kHz es llamada ultrasonido de potencia, debido a la alta densidad de energía introducida en el medio. Las investigaciones de procesamiento de alimentos para este intervalo incluyen inactivación de enzimas, pasteurización, extracción de bioactivos, mejora de los procesos de oxidación, mejora de texturas en alimentos y emulsificación. El ultrasonido de potencia está basado en la cavitación acústica, las condiciones extremas generadas por este fenómeno generan ondas de choque de presión, transmisión acústica intensa, formación de radicales libres de hidroxilo y sonoluminiscencia (Trujillo *et al.*, 2014).

La segunda región es el intervalo de frecuencias intermedias está definido entre 100 kHz y 1 MHz. Los efectos de la cavitación son menos pronunciados entre estas frecuencias debido a que el tamaño de expansión de las burbujas es inversamente proporcional a la frecuencia. La intensidad del colapso de las

burbujas durante la cavitación es proporcional su volumen de expansión. Por lo tanto, entre menor sea el tamaño de las burbujas más débil serán los efectos de la cavitación. Inclusive los efectos mecánicos en esta región son menores comparados con los obtenidos en la región de ultrasonido de potencia (Trujillo *et al.*, 2014).

Por último, se encuentra el intervalo de altas frecuencias, incluye aquellas mayores a 1 MHz. Como ya se mencionó son preferibles estas frecuencias para separación acústica de partículas y glóbulos con tamaños de micrómetros, porque las fuerzas acústicas aumentan y los efectos de la cavitación decrecen con el aumento de la frecuencia (Trujillo *et al.*, 2014).

Con respecto a la aplicación del tratamiento de ultrasonido, se ha implementado como coadyuvante en la extracción de aceite, pero aplicado durante el proceso de extracción con solventes (Figura 1.4). Será necesario indagar sobre la posibilidad de sustituir completamente los solventes con dicho tratamiento.

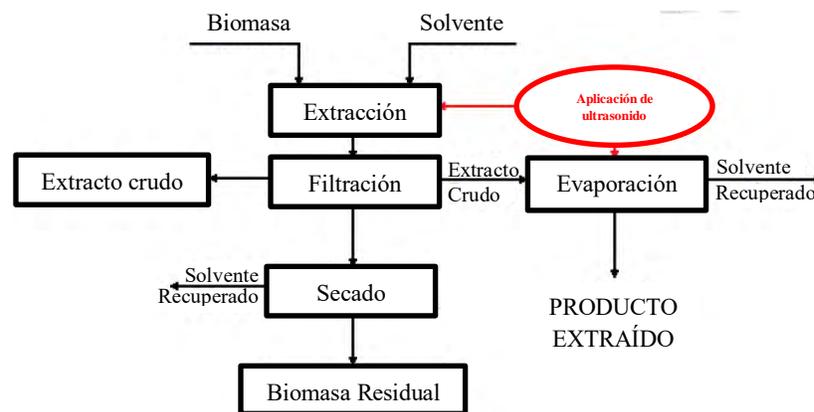


Figura 1.4. Diagrama de bloques de proceso para extracción de aceite con solventes, asistida con ultrasonido (Vinatoru *et al.*, 2017).

### 1.5.1 Principios físicos de separación por ultrasonido

Cuando un campo estacionario de ondas ultrasónicas es mantenido en un medio que contiene partículas o glóbulos en suspensión (sistema disperso), la onda puede ser parcialmente dispersada por las partículas si hay una diferencia de

impedancia acústica entre el fluido y el material de las partículas. La dispersión de la onda produce lo que es llamado fuerza acústica primaria. Esta fuerza mueve partículas y glóbulos al nodo o antinodo dependiendo del signo del factor de contraste acústico, el cual es función de la densidad y compresibilidad de las partículas y el medio que las rodea. El factor de contraste muestra si hay diferencia de impedancia acústica entre el fluido y las partículas o glóbulos, y puede ser calculado utilizando la siguiente ecuación:

$$\emptyset = \frac{5\rho_p - 2\rho_l}{2\rho_p + \rho_l} - \frac{\kappa_p}{\kappa_l} \quad (1)$$

Donde  $\rho$  es la densidad,  $\kappa$  es la compresibilidad y los subíndices  $l$  y  $p$  se refieren al medio líquido y a las partículas, respectivamente. Las partículas se mueven hacia los nodos de la onda estacionaria cuando el factor de contraste tiene signo positivo y hacia los antinodos cuando el signo es negativo. La Figura 1.5 muestra un resonador de media longitud de onda donde un solo nodo de presión es formado en el centro del canal o cámara.

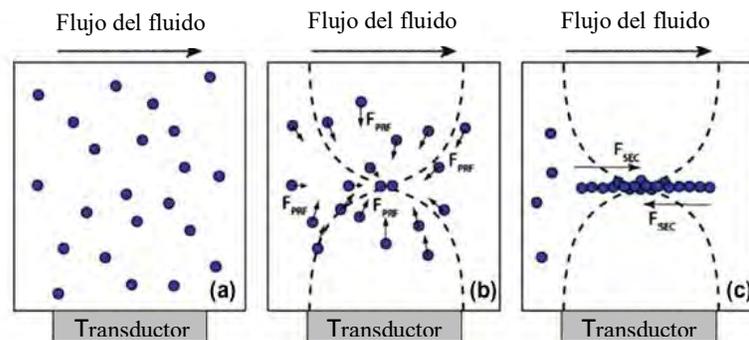


Figura 1.5. Resonador ultrasónico de media longitud de onda en fluido con partículas suspendidas (Trujillo *et al.*, 2014).

Cuando las partículas son desplazadas hacia los planos nodales o antinodales hay fuerzas que actúan a cortas distancias, llamadas “fuerzas acústicas secundarias” o “fuerzas Bjerknes”. Estas fuerzas tienden a atraer partículas al plano y juntarlas. Las fuerzas Bjerknes son originadas por la dispersión del sonido de las partículas vecinas. La dirección de estas fuerzas depende del ángulo entre el vector de

distancia de separación de las dos partículas y la dirección del campo sonoro. Generalmente estas fuerzas atraen partículas entre sí en el plano nodal o antinodal como se puede ver en el lado derecho de la Figura 1.5. Una vez que las partículas o glóbulos son agrupados juntos en un plano, pueden flocular o coalescer en grandes agregados.

Los agregados de partículas o glóbulos pueden flocular o cremar a una tasa mayor si hay diferencia de densidades entre el medio líquido y la partícula o glóbulo. Esto debido a la fuerza de flotación o gravitacional, como se muestra en la ecuación:

$$F_B = \frac{3}{4}\pi r^3 g(\rho_l - \rho_p) \quad (2)$$

Donde  $F_B$  es la fuerza debido a la flotación y  $g$  es la gravedad. Partículas moviéndose en un líquido viscoso experimentan la fuerza de arrastre de Stokes  $F_D$ . Para partículas pequeñas es razonable despreciar su inercia y asumir que siempre se mueven en un estado estacionario local. Para bajos números de Reynolds la fuerza de arrastre  $F_D$  puede ser estimada como:

$$F_D = 6\eta\pi r(v_l - v_p) \quad (3)$$

Donde  $\eta$  es la viscosidad del fluido,  $v_l$  es la velocidad del fluido y  $v_p$  es la velocidad de la partícula. El efecto combinado de estas fuerzas puede inducir la separación de fases (Trujillo *et al.*, 2014).

Como ya fue mencionado la fuerza motriz de la extracción asistida por ultrasonido es la cavitación, las ondas ultrasónicas son propagadas a través de una serie de compresiones y rarefacciones inducidas por las ondas en las moléculas del medio que atraviesan. Con suficiente potencia el ciclo de rarefacción puede exceder las fuerzas atractivas de las moléculas del líquido, formando burbujas de cavitación (Figura 1.6).

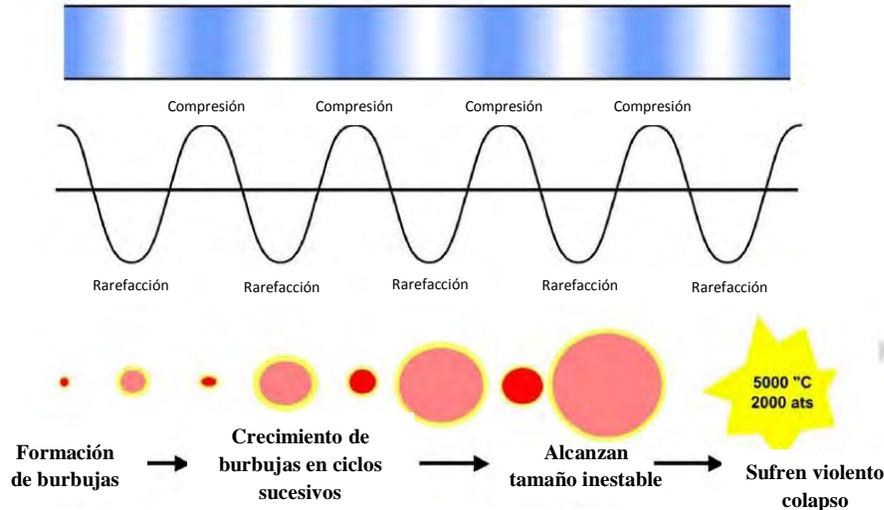


Figura 1.6. Generación y colapso de burbujas por cavitación (Vinatoru *et al.*, 2017).

Dichas burbujas crecen por un proceso conocido como difusión rectificada, desde el medio entran en la burbuja pequeñas cantidades de vapor (o gas) durante su fase de expansión y no se expulsan por completo durante la compresión. Por lo que estas burbujas colapsan en los ciclos sucesivos de compresión, lo cual genera energía (Vinatoru *et al.*, 2017). Otra manera útil de entender la cavitación es definiéndola como el proceso de nucleación en un líquido cuando la presión cae por debajo de la presión de vapor a una temperatura determinada (Figura 1.7) (Brennen, 1995).

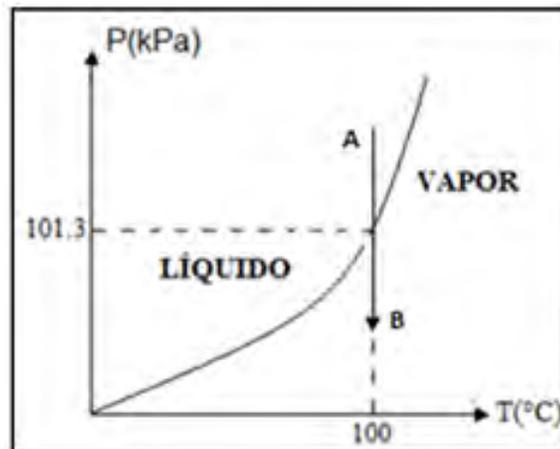


Figura 1.7. Evaporación por cambio de presión a temperatura constante (Ramírez *et al.*, 2013).

Las burbujas creadas en un líquido homogéneo son simétricas y su colapso en el líquido es también simétrico, dejando puntos calientes localizados (~5000 K y ~2000 atm). El proceso dinámico, que consta de crecimiento, decrecimiento y colapso viene descrito por la ecuación de Rayleigh-Plesset (Ramírez *et al.*, 2013).

$$\frac{2\sigma}{R} = p_b - p_\infty - \rho \left( R\ddot{R} + \frac{3}{2}\dot{R}^2 \right) - \frac{4\mu\dot{R}}{R} \quad (4)$$

Siendo  $R(r, t)$  el radio de la burbuja,  $\dot{R}$  la derivada temporal de la burbuja,  $p_b$  la presión al interior de la burbuja,  $p_\infty$  la presión del fluido que rodea a la burbuja,  $\mu$  la viscosidad,  $\sigma$  la tensión superficial y  $\rho$  la densidad del fluido, respectivamente.

Tan pronto como una burbuja colapsa cerca de una interfase (que puede ser de partículas suspendidas en el líquido o una pared celular) se deforma asimilándose a una dona, el colapso es asimétrico y es formado un chorro de alta velocidad, impactando contra la superficie con la capacidad de arrastrar partículas, retirándolas o inclusive de causar daño a dicha superficie (liberando componentes celulares y facilitando la transferencia de masa al exterior de la célula). Una representación de burbujas simétricas y asimétricas colapsando y los efectos mecánicos de los chorros golpeando las partículas a una velocidad muy alta (>400 km/h) en agua, es mostrada en la Figura 1.8 (Vinatoru *et al.*, 2017).

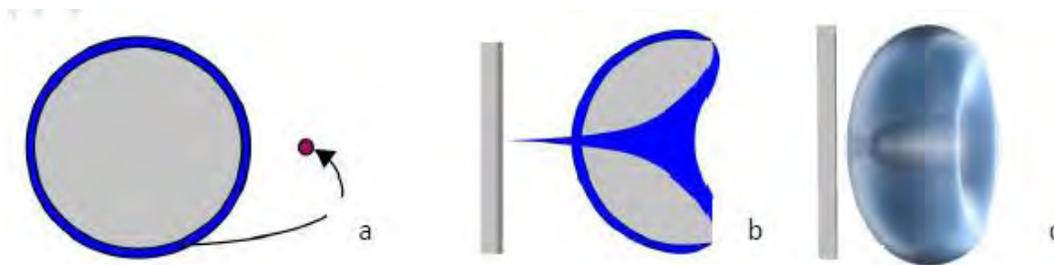
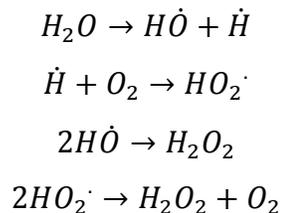


Figura 1.8. Representación de colapsos simétrico (a), asimétrico (b) y en forma de dona (c) (Vinatoru *et al.*, 2017).

### 1.5.2 Ultrasonido aplicado a puré de aguacate

Martínez-Padilla *et al.* (2018) extrajeron aceite de aguacate con ultrasonido de alta y baja frecuencia en puré tratado con y sin malaxación. Con mejores resultados al sonicar con frecuencia de 2 MHz. Con bajas frecuencias la calidad del aceite fue afectada ya que se presentó un mayor índice de peróxidos que el máximo permitido para aceite de olivo en el estándar australiano 5264-2011 (20 meqO<sub>2</sub>/kg) y un menor contenido de fenoles totales, mientras que con altas frecuencias con energía específica de 80-90 kJ/kg, se mantuvo constante. El tratamiento a 2 MHz en el puré malaxado resultó en un aumento en la extractabilidad de aceite de 2-5%. Por lo que el tiempo de malaxado podría ser reducido implementando el tratamiento ultrasónico de alta frecuencia post-malaxado, manteniendo a su vez la calidad del aceite.

Por otro lado el ultrasonido presenta desventajas, ya que el colapso de las burbujas de vapor de agua genera condiciones extremas que provocan el rompimiento homolítico de las moléculas de agua, formando H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y otros agentes oxidantes, de acuerdo a las reacciones:



La cantidad de estas especies oxidantes es pequeña, sin embargo pueden provocar daños significativos si la sonicación es llevada a cabo por largos periodos de tiempo, los efectos de las especies oxidantes pueden ser minimizados introduciendo un gas inerte como nitrógeno o argón en la mezcla. El gas reduce el umbral de la cavitación y por lo tanto la energía de los colapsos, reduciendo la formación de agentes oxidantes (Vinatoru *et al.*, 2017).

Bi *et al.* (2015) encontraron que la actividad de polifenol oxidasa en puré de aguacate diluido incrementó significativamente con el tratamiento de ultrasonido. Los incrementos máximos de 25.1%, 36.9% y 187.8% en la actividad de polifenol oxidasa se presentaron en muestras con dilución de 1:2, 1:5 y 1:9, respectivamente, por lo que puede haber un nivel de dilución a partir del cual la actividad enzimática es acelerada. Costa *et al.* (2013) encontraron que la actividad de polifenol oxidasa en jugo de piña incrementó de 1.84 a 3.91% después del tratamiento con ultrasonido a  $226 \text{ W/cm}^2$  por 2-6 minutos y decreció con el aumento del tiempo de aplicación del tratamiento. El incremento en la actividad enzimática es causado por la ruptura de la célula por la aplicación de ultrasonido y la consecuente liberación de la enzima y los compuestos fenólicos (Bi *et al.*, 2015).

### **1.6 Extracción de aceite asistida por microondas**

Las microondas son una forma de energía electromagnética, no ionizante, que provoca el movimiento molecular por migración de iones y rotación de dipolos, pero no causa cambios en la estructura (Figura 1.9). Las microondas ocupan parte del espectro electromagnético y están caracterizadas por estar situadas entre 1 mm y 1 m cuyo intervalo de frecuencia se encuentra entre 300 MHz y 300 GHz. Normalmente son usadas para el procesamiento industrial de alimentos, con frecuencias de entre 915 MHz (usualmente para equipo industrial) y 2450 MHz (usualmente para equipo de laboratorio) y para uso doméstico se utiliza a 2450 MHz (Kalla y Devaraju, 2017).

La interacción de las microondas con los materiales puede ser clasificada dentro de las siguientes categorías:

- 1) Materiales opacos: típicamente materiales conductores con electrones libres, como los metales, que reflejan las ondas electromagnéticas y no les permiten el paso a través de ellos, son utilizados para la construcción de aplicadores de microondas.
- 2) Materiales transparentes: materiales con factor de pérdida dieléctrica bajo o materiales aislantes, como el vidrio, cerámica y aire, los cuales reflejan y

absorben ondas electromagnéticas en una medida insignificante y permiten su paso a través de ellos fácilmente con una pequeña atenuación, estos son reactores utilizados dentro de los aplicadores de microondas.

- 3) Materiales absorbentes: materiales cuyas propiedades se encuentran entre las de conductores y aislantes. Son conocidos por su alto factor de pérdida dieléctrica y alta absorción de energía electromagnética, utilizándola para calentamiento, éstos son los materiales que son sujetos de extracción con microondas, ya que sólo los materiales que absorben la energía de las microondas pueden ser calentados.

La energía del fotón de las microondas corresponde a la frecuencia utilizada por el sistema de calentamiento por microondas, variando entre  $3.78 \times 10^{-6}$  a  $1.01 \times 10^{-5}$  eV, actuando como radiación no ionizante, la cual no afecta la estructura molecular, ya que la energía de ionización de enlaces químicos se encuentra entre 3-8 eV, ni siquiera afectando los puentes de hidrógeno cuya energía se encuentra entre 0.04-0.44 eV (Vinatoru *et al.*, 2017).

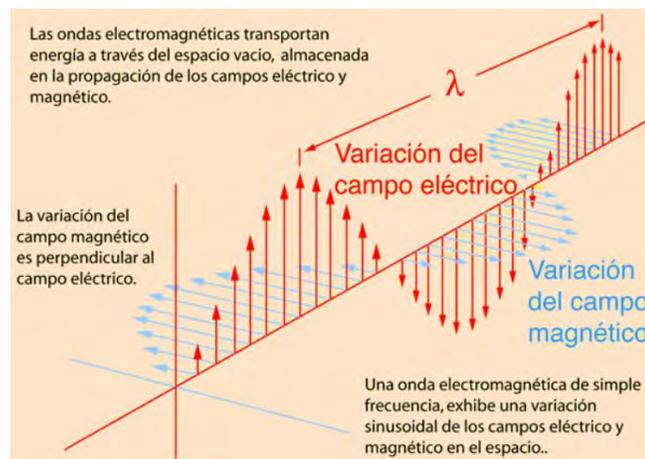


Figura 1.9. Representación de onda electromagnética (Hyperphysics, 2017).

El alto contenido de agua en alimentos, provoca que la velocidad de calentamiento sea también alta. El agua tiene dos cargas parciales opuestas debido a la presencia de dos átomos de hidrógenos cargados positivamente y un átomo de oxígeno cargado negativamente.

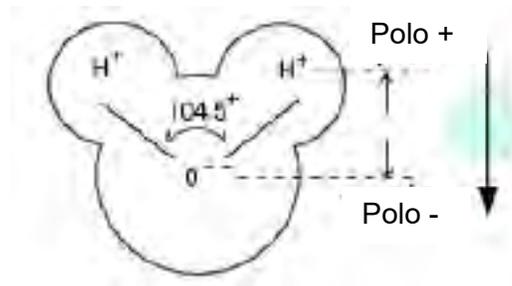
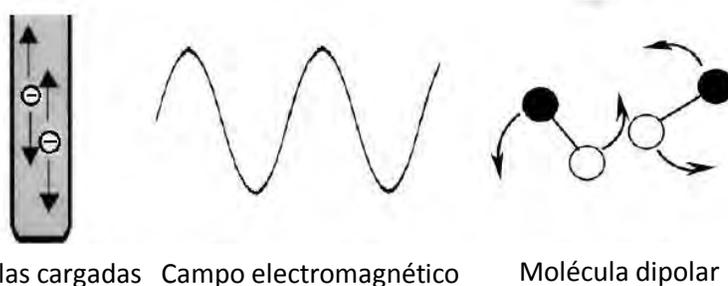


Figura 1.10. Estructura de una molécula de agua y su representación como dipolo permanente (Okeke et al., 2014).

Cuando las microondas oscilan, las moléculas de agua rotan. La carga negativa del agua es atraída por la carga positiva de la microonda, mientras que la carga positiva del agua es atraída por la negativa de la onda, la Figura 1.10 ilustra la rotación de una molécula diatómica dipolar. La molécula de agua rota a la misma frecuencia que la onda, esta rotación extremadamente alta provoca que las moléculas de agua choquen entre sí a muy alta velocidad. Esto crea fricción entre las moléculas y esta fricción genera calor, el cual se transfiere a través del alimento por conducción, convección o radiación, por lo tanto el alimento se calienta. La factibilidad de utilizar energía de microondas para el calentamiento de cualquier material es dependiente de sus propiedades dieléctricas (constante dieléctrica y factor dieléctrico de pérdida), los cuales determinan el poder de absorción de las microondas, así como su penetración. El patrón de calentamiento de una muestra, calentada con energía de microondas va a depender de factor de disipación ( $\tan \delta'$ ) de la muestra. El factor de disipación es la relación entre el factor de pérdida ( $\epsilon''$ ) y la constante dieléctrica ( $\epsilon'$ ). La constante dieléctrica es una medida de la habilidad de obstruir la energía de microondas cuando pasa a través de un material mientras que el factor de pérdida mide la habilidad de disipar la energía. El factor de disipación es finito para un material que puede absorber las ondas y varía dependiendo del material. Cuanto mayor sea el factor de disipación de una muestra menor es la penetración de la energía a una frecuencia dada. Sin embargo la mayor cantidad de energía es disipada como calor. La energía de las microondas es disipada como calor por medio de dos mecanismos: conducción iónica y rotación dipolar (Kalla y Devaraju, 2017).

- a) Conducción iónica. Se refiere a la migración conductiva, de los iones disueltos, en el campo electromagnético aplicado (Figura 1.11). La migración iónica es un flujo que resulta en pérdidas  $I^2R$  (producción de calor) debido a la resistencia al flujo de iones, esta conducción se ve afectada por la concentración del ión, su movilidad y la concentración de la solución. Todos los iones en la solución contribuyen al proceso de conducción iónica y todos ellos consisten en al menos dos especies iónicas y cada especie va a conducir corriente de acuerdo a su concentración y movilidad (el movimiento neto de los iones en un campo eléctrico genera calor, lo que aumenta la temperatura de la muestra).
- b) Rotación dipolar. Se refiere a la alineación de las moléculas que tienen momento dipolar, cuando son expuestas a un campo eléctrico (Figura 1.11). Como el campo eléctrico de las microondas aumenta, la energía alinea las moléculas y a medida que el campo disminuye, el desorden inducido térmicamente se restaura. El campo aplicado provoca alineación temporal de las moléculas en una misma dirección, cuando el campo es removido, las moléculas regresan al desorden provocando agitación y liberación de la energía térmica. A 2450 MHz, la alineación de las moléculas seguidas por su regreso al desorden ocurre  $4.9 \times 10^9$  veces por segundo y resulta en un calentamiento muy rápido.



Partículas cargadas    Campo electromagnético    Molécula dipolar

Figura 1.11. Interacción entre campo electromagnético con partículas cargadas y con moléculas dipolares (Vinatoru *et al.*, 2017).

Muchas clases de compuestos (aceites esenciales, antioxidantes, pigmentos, aromas, etc.) han sido separados eficientemente de materiales crudos,

principalmente de origen vegetal, a través de la aplicación de microondas (Vinatoru *et al.*, 2017).

Los métodos de extracción asistida por microondas pueden ser clasificados en:

- Métodos de extracción sin solventes (usualmente para compuestos volátiles). Véase Figura 1.12.
- Métodos de extracción con solventes (para compuestos no volátiles).

Las microondas calientan el material a través de su volumen mientras que el calentamiento tradicional ocurre desde fuera y requiere de conducción de calor desde el exterior, en contacto con una superficie caliente. Para este tipo de proceso in-situ, el agua de las células vegetales es calentada, lo que provoca un incremento en la presión al interior de las células, lo cual rompe las paredes celulares y libera las moléculas de interés (Vinatoru *et al.*, 2017).



Figura 1.12. Mecanismo de extracción con microondas, sin utilizar solventes (Vinatoru *et al.*, 2017).

La extracción asistida por microondas presenta ventajas sobre los métodos tradicionales (Vinatoru *et al.*, 2017), algunas de las cuales se presentan en el Cuadro 1.6.

Con respecto a su aplicación, el procesamiento térmico de productos alimenticios con tecnología de microondas (MO) ha ganado gran impulso debido a su capacidad de proporcionar un calentamiento rápido y ser aplicado a grandes volúmenes. Muchos estudios han mostrado un mayor grado de preservación de

color, compuestos bioactivos y actividad antioxidante de frutas tratadas con microondas en comparación con el calentamiento convencional (Zhou *et al.*, 2016).

La intensidad del calentamiento para inactivar las enzimas depende de muchos factores, ya que cada una tiene una determinada termosensibilidad, pero también influye el pH, la presencia de sales y el grado de aireación (Zhou *et al.*, 2016).

Cuadro 1.6. Consideraciones más importantes del proceso de extracción de compuestos bioactivos utilizando microondas (Vinatoru *et al.*, 2017).

<b>Propiedad de las microondas</b>	<b>Ventajas del proceso asistido por microondas en función de Proceso convencional</b>
<b>Las microondas están basadas en energía eléctrica</b>	Permite adoptar fuentes de energía renovables/sustentable, que no provengan de combustibles fósiles
	Mejora las condiciones de seguridad para los trabajadores
	Operación completamente automatizada
	Control preciso de la energía absorbida por la mezcla a tratar
<b>Las microondas no son una fuente de calor donde se requiera contacto</b>	Provoca que el calentamiento sea más efectivo y selectivo
	Procesos libres de solventes pueden ser desarrollados fácilmente utilizando microondas
	Acelera la transferencia de energía
	Reduce el gradiente de temperatura, el tamaño del equipo y las unidades de operación
	Permite obtener una alta intensidad de potencia
<b>Las microondas pueden calentar materiales selectivamente</b>	El calentamiento selectivo del material vegetal incrementa el rendimiento de extracción y reduce el tiempo del proceso, comparado con lo que proporciona la extracción con solventes

Cabe señalar que al calentar los frutos y sus derivados debe considerarse que hay posibilidad de que la textura se dañe seriamente. Sin embargo, cuando es posible son suficientes los tratamientos térmicos de 70 a 90 °C durante poco tiempo, para destruir enzimas. Zhou *et al.* (2016) observaron que la actividad inicial de polifenol oxidasa incrementó 52.6% cuando la muestra fue tratada por menos de 20 y 50 segundos a 11.0 y 7.7 W/g, respectivamente. Debido a los bajos niveles de temperatura ocurre el blanqueado y la polifenol oxidasa incrementa su actividad.

La polifenol oxidasa en el puré de aguacate sin aceite, fue más resistente al calor que la polifenol oxidasa en otras frutas y vegetales donde la inactivación ocurrió cerca de los 90 °C en la muestra. Para prevenir el incremento en la actividad enzimática y causar el mínimo daño térmico seleccionaron 11 W/g de densidad de potencia para producir el calentamiento más rápido con 60 y 80 s de tratamiento los cuales redujeron la actividad inicial de polifenol oxidasa a 46.8% y 14.7% respectivamente, sin mostrar cambios de color, ni degradación significativa de clorofilas. Así como aumento en el contenido fenólico total (Zhou *et al.*, 2016).

La polifenol oxidasa no fue inactivada totalmente con 80 segundos de tratamiento con microondas, pero se observó que se previno su reactivación durante el almacenamiento (se mantuvo constante cerca de 20%) (Zhou *et al.*, 2016).

### **1.7 Reología de puré y aceite de aguacate**

La reología es actualmente establecida como la ciencia de la deformación y flujo de la materia: esto es, el estudio de la forma en que los materiales responden ante la aplicación de fuerzas. Todos los materiales tienen propiedades reológicas y curvas de flujo únicas, información de ellas es muy útil en un gran número de aplicaciones industriales. Claramente, desde un punto de vista ingenieril, la curva de flujo en estado estacionario es la forma más importante para caracterizar el comportamiento reológico de los alimentos fluidos, sin embargo, muchos fenómenos no pueden ser descritos únicamente en función de la viscosidad y el comportamiento elástico debe ser tomado en consideración (Steffe, 1996; Rao, 1999).

Tres variables importantes deben ser consideradas para el estudio reológico de los materiales, esfuerzo ( $\sigma$ ), deformación ( $\gamma$ ) y tiempo (t). El esfuerzo es definido como una fuerza por unidad de área y usualmente es expresado en Pascal (Pa, N/m<sup>2</sup>) puede ser aplicado al material de manera que lo extienda, comprima o cizalle. Se requieren nueve cantidades separadas para describir completamente el

estado del esfuerzo en un material, dichos componentes pueden ser resumidos como un tensor de esfuerzo, escrito en forma de matriz:

$$\sigma = \begin{bmatrix} \sigma_{11} & \sigma_{12} & \sigma_{13} \\ \sigma_{21} & \sigma_{22} & \sigma_{23} \\ \sigma_{31} & \sigma_{32} & \sigma_{33} \end{bmatrix} \quad (5)$$

Por otro lado, la velocidad de cizalla,  $\dot{\gamma}$ , (la cual incluye a la deformación y al tiempo) o velocidad de deformación es definida como la relación de cambio de la deformación:

$$\dot{\gamma} = \frac{d\gamma}{dt} = \frac{d}{dt} \left( \frac{\delta L}{h} \right) = \frac{u}{h} \quad (6)$$

Definida a partir del comportamiento de un fluido contenido entre dos placas planas paralelas, con separación  $h$ , donde la placa inferior está fija y la superior se mueve a velocidad constante ( $u$ ). El esfuerzo de cizalla ( $\sigma_{21}$ ), es la fuerza requerida por unidad de área para mover la placa superior (considerada también como una capa del fluido) (Figura 1.13) (Steffe, 1996; Rao 1999).

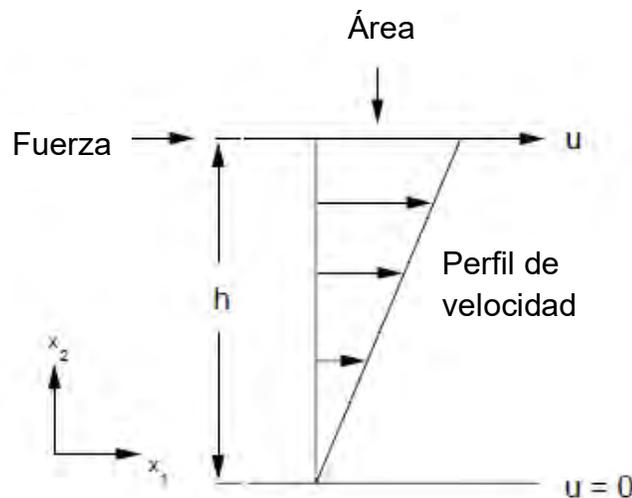


Figura 1.13. Perfil de velocidad entre dos placas paralelas (Steffe, 1996).

Las ecuaciones que muestran la relación entre esfuerzo y deformación son las llamadas ecuaciones reológicas de estado. En materiales complejos estas ecuaciones pueden incluir otras variables como tiempo, temperatura y presión. Un módulo, es definido como el cociente del esfuerzo entre la deformación, mientras que compliancia es definida como el cociente de deformación entre esfuerzo (Steffe, 1996; Rao, 1999).

### 1.7.1 Viscosimetría rotacional

El comportamiento elástico de muchos alimentos fluidos es muy pequeño y puede ser despreciado, de manera que la viscosidad sea la función principal de interés. Esta función involucra al esfuerzo de cizalla y a la velocidad de cizalla: la relación entre ambas variables es establecida por resultados experimentales. El comportamiento del fluido es visualizado como la curva resultante de graficar el esfuerzo de cizalla en función de la velocidad de cizalla, la cual es modelada matemáticamente utilizando relaciones funcionales ya determinadas. La sustancia más simple a considerar es el fluido newtoniano donde el esfuerzo de cizalla es directamente proporcional a la velocidad de cizalla (Ecuación 7).

$$\sigma = \mu\dot{\gamma} \quad (7)$$

Donde  $\mu$  es la constante de proporcionalidad, la cual tiene unidades de Pa s, equivalente a 1 poiseuille. Viscosidad dinámica y coeficiente de viscosidad son sinónimos del término “viscosidad” cuando se refiere a fluidos newtonianos, actualmente se designa indistintamente por la letra griega  $\eta$ . El inverso de la viscosidad se conoce como fluidez, sin embargo es poco frecuente utilizar dicho término. Los fluidos newtonianos también pueden ser descritos por la viscosidad cinemática ( $\nu$ ) la cual es simplemente la viscosidad dinámica dividida por la densidad del fluido ( $\rho$ ). Entonces, por definición un fluido newtoniano es aquel donde la relación entre el esfuerzo de cizalla y la velocidad de cizalla es lineal, con intercepción en el origen del plano ortogonal (Figura 1.14) (Steffe, 1996; Rao 1999).

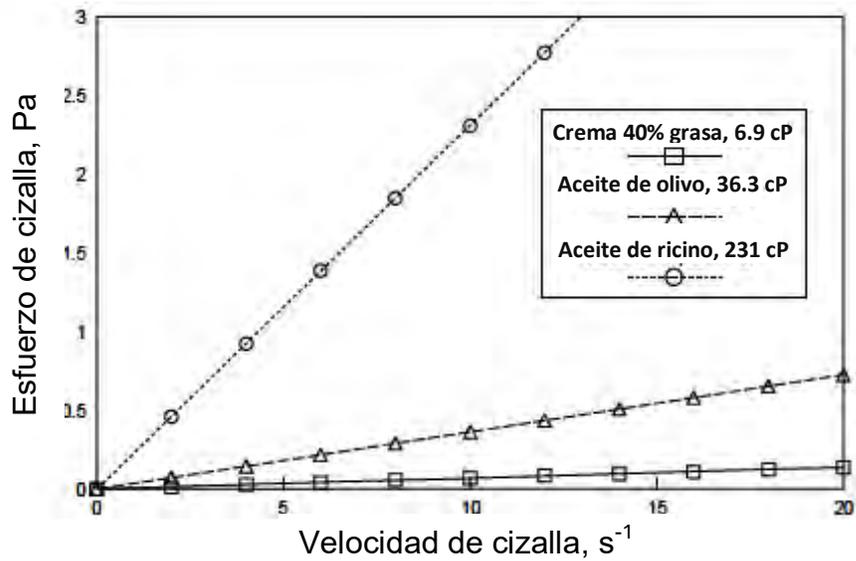


Figura 1.14. Curva de flujo de fluidos newtonianos (Steffe, 1996).

Utilizando un reómetro con cono y placa como dispositivos para la realización de la prueba, la curva de flujo puede ser obtenida directamente, de manera que los cálculos son muy simples. El instrumento trabaja con una velocidad de cizalla moderada, lo cual es apropiado para fluidos con muchas partículas de tamaño pequeño, debido a que el ángulo del cono ( $\theta$ ) es muy pequeño, menor a 0.09 rad (5 grados). Durante la operación del reómetro, el vértice del cono casi toca la placa y el fluido llena el espacio anular. El cono rota a una velocidad angular ( $\Omega$ ) conocida y el torque ( $M$ ) resultante es medido en la placa fija o a través del cono (Steffe, 1996; Rao, 1999).

El flujo en un viscosímetro de cono y placa puede ser muy complejo, requiriendo una laboriosa solución de la ecuación fundamental de movimiento. Sin embargo, cuando se utiliza un cono cuyo ángulo es pequeño (<5 grados), velocidades rotacionales pequeñas y no se consideran errores debido a los efectos de la tensión superficial en la fracción del fluido cuya superficie queda libre (la superficie tiene forma esférica con radio de curvatura igual al radio del cono,  $r$ ), entonces la velocidad de cizalla puede ser calculada como:

$$\dot{\gamma} = \frac{r\Omega}{r \tan \theta} \quad (8)$$

Indicando que la velocidad de cizalla es constante a través del espacio anular. Ésta es una de las principales ventajas de un reómetro de cono y placa. Con los pequeños ángulos encontrados en conos típicos,  $\tan \theta = \theta$  (Steffe, 1996; Rao, 1999).

Para desarrollar una expresión para el esfuerzo de cizalla, se considera el torque diferencial en un anillo anular de espesor  $dr$ :

$$dM = (2\pi r dr) \sigma r \quad (9)$$

La Ecuación 9 es integrada con respecto al radio para encontrar el torque total resultante:

$$\int_0^M dM = \int_0^R (2\pi r^2 \sigma) dr \quad (10)$$

Ya que la velocidad de cizalla es constante en el espacio anular, entonces el esfuerzo de cizalla también lo es en esa área de manera que  $\sigma = f(r)$ . La Ecuación 10 puede simplificarse a:

$$M = 2\pi\sigma \int_0^R r^2 dr \quad (11)$$

Por consiguiente,

$$\sigma = \frac{3M}{2\pi R^3} \quad (12)$$

Este resultado muestra que tanto  $\sigma$  como  $\dot{\gamma}$ , son constantes a través del espacio anular. Utilizando las Ecuaciones 8 y 12, se puede calcular fácilmente la velocidad

de cizalla y el esfuerzo de cizalla. Variando la velocidad angular, el ángulo del cono y el radio del cono, obteniendo una amplia variedad de condiciones para realizar la medición. Si es seleccionado un modelo específico, las propiedades reológicas pueden ser calculadas directamente (Steffe, 1996, Rao, 1999). La siguiente ecuación, por ejemplo, se aplica a fluidos newtonianos:

$$\frac{3M}{2\pi R^3} = \eta \left( \frac{\Omega}{\tan \theta} \right) \quad (13)$$

### 1.7.2 Pruebas dinámicas

En pruebas oscilatorias, una muestra es sometida a variaciones armónicas (usualmente sinusoidales), deformaciones de pequeña amplitud en un campo simple de corte. Muchas funciones pueden ser generadas de experimentos oscilatorios (Steffe, 1996; Rao, 1999).

Una serie de suposiciones son hechas en el desarrollo de las ecuaciones para describir las pruebas oscilatorias: el esfuerzo es el mismo en todos los puntos de la muestra, la inercia de la muestra es despreciada y que el material se comporta como una sustancia viscoelástica lineal. Cuando estas suposiciones no son cumplidas, consideraciones analíticas más complejas entran al problema. En pruebas oscilatorias, los materiales son sujetos a deformaciones o esfuerzos que varían armónicamente con el tiempo (típicamente sinusoidales). Para ilustrar el concepto, hay que considerar dos placas planas rectangulares orientadas paralelamente.

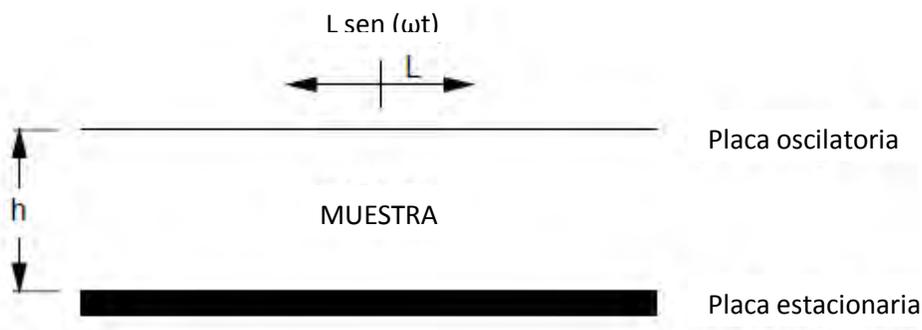


Figura 1.15. Esfuerzo oscilatorio entre placas rectangulares (Steffe, 1996).

La placa inferior está fija y la placa superior puede moverse hacia adelante y hacia atrás en dirección horizontal. Asumiendo que la muestra que está siendo analizada se sitúa entre ambas placas de un dispositivo de velocidad controlada. Suponiendo que la deformación en el material que se encuentra entre las placas, es una función del tiempo definido como:

$$\gamma = \gamma_0 \text{ sen } \omega t \quad (14)$$

Donde  $\gamma_0$  es la amplitud de la deformación igual a  $\frac{L}{h}$  cuando el movimiento de la placa superior es  $L \text{ sen } \omega t$ .  $\omega$  es la frecuencia angular expresada en rad/s la cual es equivalente a  $\frac{\omega}{2\pi}$  hertz. El periodo de tiempo requerido para completar un ciclo es igual a  $\frac{2\pi}{\omega}$ . Si las dos placas son separadas por una distancia de 1.5 mm y la superior se mueve 0.3 mm desde la línea central, entonces la amplitud de la máxima deformación puede ser calculada como 0.2 o 20%:  $\gamma_0 = L/h = 0.3/1.5 = 0.2$ . Una deformación al 10% puede ser alcanzada manteniendo  $h=1.5$  mm y moviendo la placa 0.15 mm (Steffe, 1996).

Los efectos de los cambios de amplitud y frecuencia en la función de deformación de entrada son ilustrados en la Figura 1.16. Duplicando la amplitud de 0.1 (Curva 2) a 0.2 (curva 1 o curva 3) se duplica la altura de la curva. Duplicando la frecuencia de 1 rad/s (curva 1) a 2 rad/s (curva 2 o curva 3) se reduce a la mitad el tiempo entre picos de las dos curvas (Steffe, 1996).

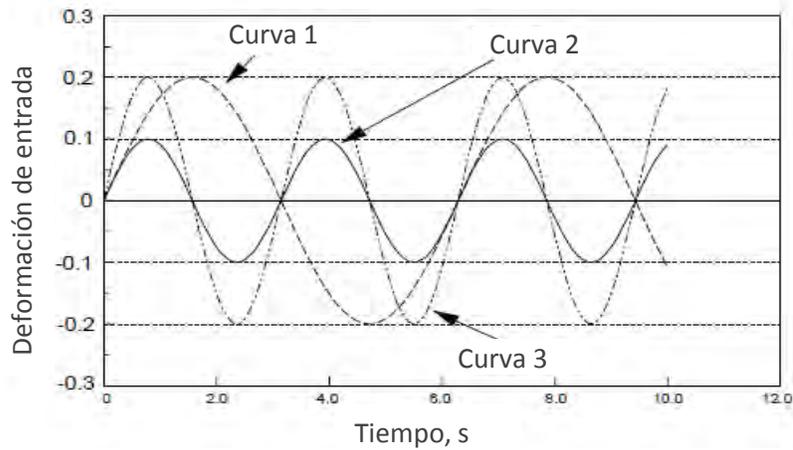


Figura 1.16. Funciones de esfuerzo de entrada, mostrando variaciones en amplitud de frecuencia y esfuerzo: curva 1)  $\gamma_0 = 0.2, \omega = 1 \frac{rad}{s}$ ; curva 2)  $\gamma_0 = 0.1, \omega = 2 \text{ rad/s}$ ; curva 3)  $\gamma_0 = 0.2, \omega = 2 \text{ rad/s}$  (Steffe, 1996).

Utilizando una onda sinusoidal para los resultados de la deformación de entrada en una velocidad de cizalla periódica, que se obtiene a través de la derivada de la ecuación:

$$\frac{dy}{dt} = \dot{\gamma} = \frac{d(\gamma_0 \text{sen}(\omega t))}{dt} \quad (15)$$

La cual puede ser evaluada como:

$$\dot{\gamma} = \gamma_0 \omega \cos(\omega t) \quad (16)$$

Con una deformación de amplitud pequeña (de manera que el material tenga comportamiento viscoelástico lineal), el siguiente esfuerzo de cizalla es producido por la deformación de entrada:

$$\sigma = \sigma_0 \text{sen}(\omega t + \delta) \quad (17)$$

Donde  $\sigma_0$  es la amplitud del esfuerzo de cizalla y  $\delta$  es el desfase o cambio de fase (también llamado pérdida del ángulo mecánico) relativo a la deformación. El periodo de tiempo asociado con el desfase es igual a  $\frac{\delta}{\omega}$ .  $\sigma_0$  puede ser pensado

como el pico de fuerza por unidad de área, recibido por la placa estacionaria. Dividiendo ambos lados de la Ecuación 17 entre  $\gamma_0$ , se obtiene:

$$\frac{\sigma}{\gamma_0} = \left(\frac{\sigma_0}{\gamma_0}\right) \text{sen}(\omega t + \delta) \quad (18)$$

Los resultados completos de pruebas oscilatorias de pequeña amplitud, pueden ser descritos por gráficos de la relación de la amplitud ( $\sigma_0/\gamma_0$ ) y el cambio de fase ( $\delta$ ) como funciones dependientes de la frecuencia. Estos parámetros solos, no son utilizados comúnmente para describir resultados y otras funciones materiales (las cuales, pueden todas ser descritas en términos de  $\sigma_0/\gamma_0$  y  $\delta$ ) han sido definidas (Steffe, 1996; Rao 1999).

El esfuerzo de cizalla de salida producido por un esfuerzo sinusoidal de entrada puede ser escrito como:

$$\sigma = G'\gamma + (G''/\omega)\dot{\gamma} \quad (19)$$

$G'$  (llamado módulo de almacenamiento de cizalla o *módulo elástico*) y  $G''$  (llamado módulo de pérdida de cizalla o *módulo viscoso*) son ambos funciones de la frecuencia y pueden ser expresados en términos de la relación de amplitud y del ángulo de desfase:

$$G' = \left(\frac{\sigma_0}{\gamma_0}\right) \cos(\delta) \quad (20)$$

y

$$G'' = \left(\frac{\sigma_0}{\gamma_0}\right) \text{sen}(\delta) \quad (21)$$

$G'\gamma_0$  puede ser interpretado como el componente del esfuerzo en fase con la deformación;  $G''\gamma_0$  puede ser interpretado como el componente del esfuerzo fuera de fase  $90^\circ$  con la deformación. Otras funciones materiales dependientes de la frecuencia, incluyen al módulo complejo ( $G^*$ ), viscosidad compleja ( $\eta^*$ ), viscosidad dinámica ( $\eta'$ ), componente fuera de fase de la viscosidad compleja ( $\eta''$ ), entre otras:

$$G^* = \frac{\sigma_0}{\gamma_0} = \sqrt{(G')^2 + (G'')^2} \quad (22)$$

$$\eta^* = \frac{G^*}{\omega} = \sqrt{(\eta')^2 + (\eta'')^2} \quad (23)$$

$$\eta' = \frac{G''}{\omega} \quad (24)$$

$$\eta'' = \frac{G'}{\omega} \quad (25)$$

Utilizando las Ecuaciones 19 y 24 se puede expresar:

$$\sigma = G'\gamma + \eta'\dot{\gamma} \quad (26)$$

La cual es una ecuación que representa el comportamiento material debido a que indica claramente la naturaleza elástica ( $G'\gamma$ ) y viscosa ( $\eta'\dot{\gamma}$ ) de una sustancia. Otra función material popular utilizada para describir el comportamiento viscoelástico es la tangente del desfase o ángulo de fase (llamado tangente delta) la cual es también una función de la frecuencia:

$$\tan(\delta) = \frac{G''}{G'} \quad (27)$$

Este parámetro está relacionado directamente con la pérdida de energía por ciclo dividido por la energía almacenada por ciclo. Ya que  $0 \leq \delta \leq \pi/2$ ,  $\tan \delta$  puede variar desde cero hasta infinito. Observaciones de sistemas poliméricos dan los siguientes intervalos de  $\tan \delta$  muy alto para soluciones diluidas, 0.2 a 0.3 para polímeros amorfos, bajo (cerca de 0.01) para polímeros cristalinos y geles (Steffe, 1996).

Las propiedades viscoelásticas de puré de aguacate son importantes para la extracción de aceite, Martínez-Padilla *et al.* (2017) evaluaron las propiedades viscoelásticas de puré de aguacate, encontrando el predominio del módulo

elástico sobre el viscoso, evaluados a 10 rad/s ( $4000\text{Pa} < G' < 9000\text{Pa}$ ,  $800\text{Pa} < G'' < 1100\text{Pa}$ ), en puré homogeneizado manualmente, este comportamiento fue confirmado por el valor de  $\tan \delta$ , valor muy debajo de 1. Además, ambos módulos mostraron una ligera dependencia de la frecuencia angular aplicada ( $0.1\text{-}100\text{ rad s}^{-1}$ ).

Tabilo-Munizaga *et al.* (2005) reportan valores mayores de  $G'$  que de  $G''$  (en puré elaborado manualmente) lo que confirma el predominio del comportamiento elástico sobre el viscoso del puré de aguacate, sin embargo, ellos agregaron ácido cítrico y ascórbico (para reducir pH y aumentar la fuerza iónica) lo cual podría haber afectado al módulo viscoso y por lo tanto obtener desviación de los resultados obtenidos por Martínez-Padilla *et al.* (2017).

En cuanto a la viscosidad compleja Martínez-Padilla *et al.* (2017) reportaron un valor muy alto ( $4 \times 10^4\text{ Pa s}$ ) a frecuencia angular baja ( $0.1\text{ rad s}^{-1}$ ) y mostraron una dependencia potencial inversa de la viscosidad compleja con la frecuencia angular, donde a  $100\text{ rad s}^{-1}$  la  $\eta^*$  decreció hasta  $100\text{ Pa s}$ . También evaluaron el efecto del tratamiento mecánico aplicado y encontraron que un tratamiento manual produce valores de los módulos mayores que uno mecánico. Esto lo atribuyeron a la producción de partículas más pequeñas y más uniformes por parte del tratamiento mecánico, el cual provoca mayor ruptura del tejido del fruto. Sin embargo, estos tratamientos no afectaron la dependencia de  $G'$  y  $G''$  de la frecuencia angular.

El módulo elástico sigue siendo más alto que el módulo viscoso después de la adición de agua, en 1, 2 y 3 partes de agua por parte de pulpa de aguacate, mostrando persistencia el predominio del comportamiento sólido incluso arriba del 93.5% de contenido de humedad, difiriendo de muchos otros alimentos que a estas condiciones presentan ya un mayor módulo viscoso (Martínez-Padilla *et al.* 2017). Además reportaron ecuaciones empíricas de la disminución exponencial de los módulos con respecto al contenido de humedad.

En cuanto a las propiedades viscoelásticas del puré de aguacate después de tratamiento con ultrasonido, Martínez-Padilla *et al.* (2017) reportaron un incremento neto en ambos módulos tras 5 minutos de tratamiento a dos frecuencias combinadas (18 y 40 kHz, 80 kJ kg<sup>-1</sup>), de 10 y 13% en G' y G'', respectivamente. Y con alta frecuencia (2 MHz, 80 kJ kg<sup>-1</sup>) el incremento fue de 31 y 32% en G' y G'', respectivamente. Sin embargo, los patrones del espectro mecánico de ambos se mantuvieron. La ruptura de la pared celular por el ultrasonido promueve la liberación de pectinas lo que puede reforzar los enlaces cruzados de fibra insoluble en la red tridimensional formada, proporcionándole mayor fuerza y por lo tanto incrementando las propiedades elásticas.

Por otro lado, Zhou *et al.* (2016), mostraron que el tiempo de tratamiento con microondas (11 W/g) no tuvo efecto en la viscosidad de puré aguacate sin aceite evaluada a 10 rad s<sup>-1</sup>, un pequeño aumento en la viscosidad evaluada entre 1 y 10 rad s<sup>-1</sup> se presentó después del tratamiento, atribuido al incremento de pectina soluble, liberada por la ruptura celular provocada por el calentamiento. En cuanto al tamaño de partícula, este se encontró entre 20-200 µm y el tratamiento con microondas tampoco afectó significativamente.

Con respecto a la viscosidad del aceite, el extraído por tratamientos de ultrasonido y malaxado resultó con una viscosidad alrededor de 60 mPa s (Martínez-Padilla *et al.*, 2018), mientras que Schwartz *et al.* (2007) reportaron una viscosidad de 43 mPa s, en aceite extraído por prensado previo tratamiento enzimático. Por otro lado Tamara de Souza *et al.* (2015) reportan que la viscosidad de aceite extraído por medio de malaxado y centrifugación es de 69.03 mPa s, mientras que la viscosidad de un aceite comercial extraído a través de prensado en frío fue de 68.46 mPa s, todos los aceites fueron extraídos de aguacate Hass y evaluados a 25 °C.

## CAPÍTULO II. METODOLOGÍA

### 2.1 Objetivos

#### General

Evaluar el efecto del tratamiento con ultrasonido y/o microondas en el tamaño de partícula, pH de puré de aguacate (*Persea americana Mill*) y rendimiento de extracción de aceite mediante pruebas físicas y fisicoquímicas, optimizando el rendimiento de extracción de aceite a través de un diseño experimental de superficie de respuesta y cuantificando la calidad del aceite extraído bajo las condiciones óptimas.

#### Particulares

1. Determinar las propiedades reológicas, humedad y rendimiento de pulpa de aguacate mediante pruebas bajo cizalla oscilatoria, termogravimetría y gravimetría, respectivamente, como control de calidad del producto a tratar.
2. Establecer el efecto del tiempo de aplicación (0, 45 y 90 s) del tratamiento con microondas a densidad de potencia constante (10 W/g), sobre el rendimiento de extracción de aceite, tamaño de partícula y pH en puré de aguacate preparado con diferente contenido de humedad (sin diluir, 1:1 y 1:2, puré de aguacate: agua), estableciendo las condiciones que proporcionen el mayor rendimiento de aceite.
3. Determinar el efecto del tiempo de aplicación (0, 7.5 y 15 min) del tratamiento con ultrasonido a densidad de potencia constante (2 W/g, con pulsaciones al 20%) sobre el rendimiento de extracción de aceite, tamaño de partícula y pH en puré de aguacate preparado con diferente contenido de humedad (sin diluir, 1:1 y 1:2, puré de aguacate:agua), estableciendo las condiciones que proporcionen el mayor rendimiento de aceite.
4. Determinar el efecto de la combinación de tratamientos de ultrasonido y microondas en puré de aguacate bajo diferentes condiciones obtenidas a través del diseño experimental de superficie de respuesta, maximizando el rendimiento de extracción de aceite.

5. Establecer la calidad del aceite obtenido bajo las condiciones óptimas de extracción con ultrasonido y microondas, mediante la determinación de viscosidad, fenoles totales, índice de acidez, índice de peróxidos e índice de yodo para compararlo con la calidad del aceite obtenido por extracción con hexano.

## **2.2 Materiales**

Se utilizó aguacate Hass (*Persea americana* Mill.) adquirido en Walmart Cuautitlán, estado de México. Se seleccionaron las frutas maduras listas para consumo, de acuerdo a su color, con alto grado de ennegrecimiento y epicarpio suave al tacto (Osuna-García *et al.*, 2010). Las frutas que aún no habían alcanzado alto grado de ennegrecimiento y textura suave del epicarpio, fueron almacenadas a 7 °C y acondicionadas dejándolas 1 hora a temperatura ambiente antes de las pruebas para alcanzar una temperatura de 20-25 °C en el puré.

Cuando fue necesario se utilizó agua Epura (Pepsico México; pH 6.38) en mezcla con agua Bonafont (Danone, México; pH 7.34) al 93 y 7% respectivamente, con la finalidad de obtener agua de pH 7 (aproximadamente).

## **2.3 Métodos**

### **2.3.1 Preparación del puré de aguacate**

El aguacate Hass se lavó y se le retiró la piel y la semilla. Se cuantificó el rendimiento en peso de la pulpa. La pulpa se homogeneizó con mezclador de alta velocidad de inmersión (Taurus SR-150) por 1 minuto en un vaso de precipitados de 1 litro.

Se prepararon muestras con diferente contenido de humedad, agregando agua en proporción, 1:1 y 1.2, mezclando manualmente.

## **2.3.2 Determinación de propiedades físicas y reológicas del puré de aguacate**

### **2.3.2.1 Humedad**

La determinación de humedad del puré de aguacate y muestras tratadas se llevó a cabo para confirmar el estado de madurez de los aguacates y para asegurar que la muestra no perdió humedad con el tratamiento o con el tiempo de almacenamiento (en caso que sea requerido). Se utilizó una termobalanza Ohaus MB45 (Suiza), la cual tiene como fundamento el principio termogravimétrico. En ésta la humedad es tomada como la pérdida de peso al secado, en la cual se emplea una balanza de torsión sensible para pesar la muestra y una lámpara infrarroja para secar (NMX-F-428-1982). Las condiciones del perfil de medición fue el método rápido con el criterio de finalización cronometrada A60 (la prueba finaliza cuando el peso de la muestra varía menos de 1 mg durante 60 segundos), con temperatura de 95 °C. La cantidad de muestra evaluada fue de 2 gramos aproximadamente y se realizaron 3 repeticiones. Los resultados aparecen directamente en la pantalla del equipo, expresados como porcentaje de humedad.

### **2.3.2.2 Rendimiento de pulpa de aguacate**

Se calculó con la finalidad de conocer la cantidad de pulpa disponible por aguacate para la extracción de aceite. Indirectamente sirve también como referencia del grado de madurez ya que cuando el aguacate está en un grado de madurez alto o bajo el rendimiento disminuye. Un estado de madurez óptimo se refleja proporcionando un rendimiento alto.

$$RP (\%) = \frac{\text{Masa de pulpa (g)}}{\text{Masa de aguacate (g)}} (100) \quad (28)$$

### **2.3.2.3 Propiedades viscoelásticas del puré de aguacate**

La caracterización de viscoelasticidad fue llevada a cabo en puré de aguacate con la finalidad de establecer los parámetros reológicos como control de calidad. La prueba se llevó a cabo en un reómetro Anton Paar, Physica MCR-301 (Austria), utilizando una placa rugosa (PP50) para lo cual fue necesario determinar

inicialmente la zona de viscoelasticidad lineal, por lo que se realizó un barrido de deformación de cizalla, aplicado de forma sinusoidal, considerando entre 0.01 y 0.1% de deformación, a una frecuencia constante (1Hz o 10 rad/s), obteniendo el esfuerzo de cizalla resultante en 25 puntos (también de forma sinusoidal). Posteriormente se realizó un barrido de frecuencia angular (en la zona de viscoelasticidad lineal) manteniendo una deformación de cizalla constante (sinusoidal), con una velocidad angular de 0.1-100 rad/s. Se realizó por triplicado. De esta prueba se obtuvieron los valores de  $G'$ ,  $G''$ ,  $\eta^*$  y  $\delta$  en función de la velocidad angular. Para fines de comparación se reportaron  $G'$ ,  $G''$  y  $\eta^*$  a 10 rad/s, donde se calculó la media, desviación estándar y el coeficiente de variación en porcentaje.

### **2.3.3 Extracción de aceite de aguacate por medio de ultrasonido y microondas**

#### **2.3.3.1 Tratamiento con ultrasonido**

Para la aplicación de ultrasonido se utilizó un procesador ultrasónico, modelo UP400St (Hielscher, Alemania). El instrumento se basa en generar vibraciones mecánicas longitudinales por medio de estimulación eléctrica (efecto piezoeléctrico inverso) con una frecuencia de 24 kHz. Las vibraciones son amplificadas por el sonotrodo instalado (diámetro de 40 mm) y formado como un vibrador  $\lambda/2$  y transferidas desde el área de su cara terminal hacia el medio a ser irradiado, el ultrasonido provoca cavitación usada para varios propósitos. La densidad de potencia acústica transferida al medio depende de la forma del sonotrodo y el tamaño del área de su cara terminal (Hielscher, 2017).

Aplicando una potencia constante de 400 W, con pulsos al 10% (evitando de esta manera el calentamiento de la muestra, manteniendo  $T \cong 20\text{ }^\circ\text{C}$ ) durante 0, 7.5 y 15 minutos, sobre una masa de muestra constante de 200 g en vasos de precipitados de vidrio de 400 mL, con diámetro de 7.3 cm y altura de 10.4 cm, equivalente a densidad de potencia de 2 W/g e intensidad acústica de 31.8 W/cm<sup>2</sup>.

### **2.3.3.2 Tratamiento con microondas**

El tratamiento con microondas fue efectuado en un horno de microondas modelo KOR-147HBS (Daewoo, Corea del sur). Las microondas son una forma de energía electromagnética, no ionizante, que provoca el movimiento molecular por migración de iones y rotación de dipolos pero no causa cambios en la estructura (*dichos movimientos producen calor*). El puré se trató en vasos de precipitados de vidrio de 150 mL con medidas de 5.5 cm de diámetro y 8 cm de altura, pesando 100 g de muestra colocada en el centro del plato giratorio del horno el cual trabaja con frecuencia de 2450 MHz. Se aplicó una densidad de potencia constante de 10 W/g en 2 y 3 pulsos de  $t \leq 30$  segundos cada uno (evitando que la temperatura superara los 74 °C), enfriando rápidamente en un baño de temperatura constante con agua a 5 °C hasta que la muestra alcanzaba una temperatura de 20 °C.

Finalmente se aplicaron ambos tratamientos en combinación de condiciones para evaluar su interacción mediante un diseño estadístico y posteriormente poder optimizar el rendimiento de aceite. Todas las corridas experimentales fueron realizadas por triplicado.

### **2.3.3.3 Separación de aceite**

Después de la aplicación de los tratamientos con ultrasonido y/o microondas se realizó la separación de fases por medio de una centrifuga Hettich Universal 320 (Alemania), la cual funciona debido a su alta velocidad de rotación, ésta genera una fuerza centrífuga que actúa sobre las fases de diferente densidad (Leung, 2007). Se separaron muestra de 40 g, con 5000g (6550 rpm) durante 30 minutos. El aceite separado se retiró con una micropipeta y se cuantificó su masa.

## 2.3.4 Determinación de propiedades físicas y reológicas del aceite de aguacate extraído por ultrasonido y/o microondas

### 2.3.4.1 Rendimiento de aceite

Para poder cuantificar el aceite separado de la pulpa y para evaluar el efecto de los tratamientos sobre la muestra y del contenido de agua añadida en la extracción del mismo, fue necesario calcular el rendimiento de aceite extraído. Los valores obtenidos se utilizaron para optimizar el proceso. El rendimiento de aceite (RA) se calcula de varias formas (Martínez-Padilla *et al.*, 2018):

- Rendimiento de aceite con respecto a la masa total de pulpa, cuando ésta no tiene dilución en agua:

$$RA (\%) = \frac{\text{Aceite extraído (g)}}{\text{Masa de pulpa (g)}} (100) \quad (29)$$

En los casos donde la pulpa es diluida con agua y donde la concentración de pulpa (CP) es calculada con la siguiente ecuación:

$$CP = \frac{\text{Masa de pulpa (g)}}{\text{Masa de pulpa (g)} + \text{Masa de agua (g)}} = \frac{\text{Masa de pulpa (g)}}{\text{Masa del puré (g)}} \quad (30)$$

Se tiene entonces que el rendimiento de aceite en puré o pulpa con dilución es:

$$RA (\%) = \frac{\text{Aceite extraído (g)}}{\text{Masa de puré (g)} * CP} (100) \quad (31)$$

En el caso donde la pulpa no se diluye, es decir donde la masa de agua es cero, CP es igual a 1 y la Ecuación (31) se reduce a la Ecuación (29)

- Rendimiento neto, calculado con respecto a la cantidad de aceite extraíble con hexano.

$$RN (\%) = \frac{RA (\%)}{RA (\%) \text{extraíble con hexano}} (100) \quad (32)$$

- Finalmente para poder evidenciar el efecto neto del ultrasonido o microondas, sobre la extractabilidad de aceite, se tienen las siguientes ecuaciones:

$$ENU (\%) = \frac{\text{Aceite extraído por US o MO (g)} - \text{Aceite extraído en control (g)}}{\text{Aceite extraído con hexano (g)}} (100) \quad (33)$$

Si se requiere conocer el rendimiento con respecto a la masa de pulpa utilizada, basta con cambiar la cantidad de aceite extraído con hexano por la cantidad de pulpa de aguacate utilizada para la obtención del aceite, en la Ecuación 33.

#### **2.3.4.2 Viscosidad de aceite de aguacate**

La viscosidad del aceite de aguacate fue evaluada utilizando un reómetro Anton Paar, Physica MCR-301 (Austria) el cual tiene como principio de medición transferir cantidad de movimiento a la muestra contenida entre los dispositivos empleados (en régimen laminar). Se mide el par de torsión o torque del motor, requerido para mover el rotor y se transforma a esfuerzo de cizalla por una constante específica para cada rotor. La velocidad de rotación se transforma en velocidad de cizalla con la constante de proporcionalidad respectiva, que también depende de las dimensiones de la geometría utilizada (Martínez-Padilla, 2015). Se utilizó un cono de 1° con 75 mm de diámetro y una placa plana. Evaluando el esfuerzo de cizalla resultante de dos ciclos de ascenso-descenso de velocidades de cizalla en intervalo de 0.1 a 500 1/s con 25 puntos de 10 segundos cada uno, a temperatura de 25 °C, por triplicado. Se obtuvieron curvas de flujo a partir del gráfico de esfuerzo de cizalla en función de velocidad de cizalla, a lo cual se ajustó a un fluido newtoniano, en dicho intervalo de velocidad de cizalla.

## **2.3.5 Determinación de propiedades fisicoquímicas antes y después de cada tratamiento aplicado al puré de aguacate**

### **2.3.5.1 Tamaño de partícula**

La distribución del tamaño de partícula del puré de aguacate fue medida después de aplicar los tratamientos de ultrasonido y/o microondas, debido a que el ultrasonido puede inducir floculación y coalescencia o reducir el tamaño de partícula, por otro lado también se desea conocer el efecto del microondas sobre la distribución del tamaño de partícula. La distribución de tamaño de un volumen de partículas se determinó en un granulómetro de rayo láser CILAS-930 LD (Francia), el cual se basa en el principio de que las partículas de un tamaño dado difractan la luz a través de un ángulo específico, el cual aumenta al disminuir el tamaño. Para ello, un haz estrecho de luz monocromática de un láser He-Ne, se hace pasar a través de una suspensión y la luz difractada se enfoca sobre un detector. Éste detecta la distribución angular de la energía de la luz dispersa. Una lente se coloca entre la muestra iluminada con el detector en su punto focal, enfocando la luz unidifractada a un punto en el centro y deja solo el patrón de difracción circundante, que no varía con el movimiento de las partículas. Se genera un patrón de difracción estable en forma de anillos concéntricos, donde la distancia entre cada uno de los anillos depende del tamaño de partícula (McCave *et al.*, 1986). Posteriormente se recurre a un modelo matemático que sea aplicable a la difracción de la luz por partículas. Para partículas menores que la longitud de onda de la fuente de luz láser ( $\lambda_1=635\text{nm}$ ,  $\lambda_2=830\text{ nm}$ ), se utiliza la teoría de Mie, ya que se dan los fenómenos de difracción y dispersión, dicho modelo requiere conocer los índices de refracción de los dos medios que constituyen el sistema investigado. Para partículas de diámetro mayor que la fuente de luz láser se utiliza la teoría de Fraunhofer, pues solamente se presenta difracción. El modelo 930, trabaja en un intervalo de tamaño de partícula de 0.2 a 500  $\mu\text{m}$  y tiene una fuente de luz láser de 830 nm (Cilas, 2004). Para la medición se trabajó en la modalidad de vía húmeda que es utilizada para materiales líquidos como emulsiones o suspensiones, la cantidad de muestra es colocada en pequeñas cantidades (con agitación durante la colocación de la muestra) hasta alcanzar una oscuración de

aproximadamente 10%. Se puede obtener un histograma de la distribución de tamaño para diferentes clases de tamaños. El histograma H es la función derivada de valores acumulativos. La curva acumulativa  $Q_3(x)$  representa la proporción de muestra que tiene un diámetro igual o menor que un diámetro x, mientras que  $q_3(x)$  es la densidad de población. La amplitud de la distribución del tamaño de partícula o índice de polidispersidad se obtiene de la siguiente manera (Camino y Pilosof, 2011):

$$S = \frac{D_{90} - D_{10}}{D_{50}} \quad (34)$$

Donde  $D_i$  se refiere al diámetro medio que tienen i% de partículas en la muestra.

### 2.3.5.2 pH

La determinación de pH se realizó como control de calidad de aguacate y puré de aguacate y se determinó después de los tratamientos de microondas y ultrasonido para verificar si tienen algún efecto sobre éste. Fue utilizado un potenciómetro Oakton modelo H700 (Singapur), el cual se basa en la medición electrométrica de la actividad de los iones hidrógeno presentes en una muestra del producto (NMX-F-317-S-1978). Para realizar la medición el potenciómetro se calibró con soluciones amortiguadoras de pH 4 y pH 7. El puré de aguacate se diluyó en 3 partes de agua de pH aproximadamente 7 y se agitó manualmente hasta homogeneizar durante 1 minuto aproximadamente, se realiza la medición directamente sobre la mezcla y los resultados de pH se leyeron directamente en la pantalla del instrumento. Se calculó  $\Delta pH$  ( $\Delta pH = pH_{final} - pH_{inicial}$ ) para conocer la magnitud y el sentido del cambio, siendo que si  $\Delta pH < 0$ , el pH disminuyó, mientras que si  $\Delta pH > 0$ , el pH aumentó al ser aplicados los tratamientos sobre las muestras.

## 2.4 Diseño experimental

Para determinar el efecto del tratamiento con ultrasonido y microondas, en puré de diferente contenido de humedad, se aplicó un diseño experimental de superficie de respuesta (Box-Behnken), con 3 factores y 3 niveles cada uno: contenido de humedad (sin diluir, 1:1 y 1:2, puré de aguacate:agua, representados por los niveles 0, 1 y 2, respectivamente), tiempo de aplicación de microondas (0, 45 y 90 s) y tiempo de aplicación de ultrasonido (0, 7.5 y 15 min), dichos factores se aplicaron por triplicado y se utilizó el valor promedio en el análisis estadístico, asegurando un coeficiente de variación menor al 10%. En el Cuadro 2.1 se resumen los experimentos a realizar.

Cuadro 2.1. Diseño de superficie de respuesta, donde MO es el tiempo de aplicación de microondas en segundos, US el tiempo de aplicación de ultrasonido en minutos y A el nivel de dilución de la muestra.

Orden estadístico	Corrida	Bloque	MO	US	A
1	1	1	0	0	1
2	2	1	90	0	1
3	3	1	0	15	1
4	4	1	90	15	1
5	5	1	0	7.5	0
6	6	1	90	7.5	0
7	7	1	0	7.5	2
8	8	1	90	7.5	2
9	9	1	45	0	0
10	10	1	45	15	0
11	11	1	45	0	2
12	12	1	45	15	2
13	13	1	45	7.5	1
14	14	1	45	7.5	1
15	15	1	45	7.5	1

Los análisis de diferencias mínimas significativas realizados para verificar el efecto e interacción de los factores y las variables de la materia prima (pH, humedad, rendimiento de pulpa y viscosidad compleja) sobre las variables de respuestas

(rendimiento de extracción de aceite, cambio de pH y tamaño de partícula) se llevó a cabo con un nivel de significancia  $\alpha = 0.05$ . Se tienen dos hipótesis:

La hipótesis nula  $H_0$ =todas las medias son iguales.

La hipótesis alterna  $H_A$ =no todas las medias son iguales.

Siendo que si  $p \leq 0.05$  ( $p$  es probabilidad) entonces no todas las medias de la población son iguales, rechazando la hipótesis nula y por lo tanto aceptando la hipótesis alterna, concluyendo que existen diferencias significativas entre medias.

Cuadro 2.2. Condiciones de cada experimento y su representación con letra y número

<b>CORRIDA</b>	<b>MO (s)</b>	<b>US (min)</b>	<b>A</b>
<b>A1</b>	45	0	0
<b>A2</b>	0	0	0
<b>B1</b>	0	0	1
<b>B2</b>	90	0	1
<b>C1</b>	45	0	2
<b>C2</b>	0	0	2
<b>D1</b>	0	7.5	0
<b>D2</b>	90	7.5	0
<b>E1</b>	0	15	1
<b>E2</b>	90	15	1
<b>F1</b>	0	7.5	2
<b>F2</b>	90	7.5	2
<b>G1</b>	45	15	0
<b>G2</b>	0	15	0
<b>H1</b>	45	15	2
<b>H2</b>	0	15	2
<b>I1</b>	45	7.5	1
<b>I2</b>	0	7.5	1

El Cuadro 2.2 muestra los experimentos realizados donde aquellos que tienen la misma letra seguida de diferente número tienen al menos una condición en común, esto fue realizado de esta manera para fines comparativos.

## 2.5 Determinación de propiedades físicas, químicas y reológicas de aceite de aguacate extraído bajo las condiciones óptimas

### 2.5.1 Lípidos extraíbles con hexano

La cuantificación de aceite extraíble con hexano es importante para conocer la cantidad de aceite que presenta el fruto de aguacate y poder medir con respecto a dicha cantidad, el rendimiento de extracción con los métodos de ultrasonificación y aplicación de microondas. Con el valor obtenido se calculó el rendimiento neto de extracción. Dicha extracción se efectuó de acuerdo al método oficial 920.39 de la AOAC, el cual requiere utilizar una muestra de puré seco para evitar la interferencia del agua con el hexano, el secado se efectuó de acuerdo al método 934.01 AOAC, con una modificación de la temperatura para evitar daños al aguacate, quedando 70 °C durante 12 horas (Jiménez *et al.*, 2001). Se extrajo una porción de 5 gramos de muestra, secada como se indica en el método oficial 934.01 de la AOAC, con hexano (Grado analítico, MACRON, EUA). Se utilizó dedal de celulosa, con porosidad que permitía el rápido paso del hexano. El periodo de extracción varía desde 4 h a tasa de condensación de 5-6 gotas/s hasta 16 h a 2-3 gotas/s. Por último, se secó el extracto 30 minutos a 100 °C, enfriando y pesando, hasta alcanzar peso constante. El contenido de aceite en base seca (BS) se calculó de la siguiente forma:

$$\begin{aligned} & \text{Rendimiento de aceite BS (\%)} \\ & = \frac{\text{Peso de matraz con aceite (g)} - \text{Peso de matraz vacío (g)}}{\text{Peso de muestra seca (g)}} (100) \end{aligned} \quad (35)$$

Para calcular el rendimiento de aceite en base húmeda BH (con fines comparativos), se tomó en cuenta que:

$$\begin{aligned} & \text{Peso de muestra húmeda} \\ & = \text{Peso de muestra seca} + \text{masa de agua retirada} \end{aligned} \quad (36)$$

Donde la masa de agua retirada es:

$$\text{Masa de agua retirada} = \frac{\text{Humedad}(\%)}{100} (\text{Peso de muestra húmeda}) \quad (37)$$

Por lo tanto:

$$\begin{aligned} & \text{Peso de muestra seca} \\ &= \text{Peso de muestra húmeda} - \left( \frac{\text{Humedad}(\%)}{100} (\text{Peso de muestra húmeda}) \right) \quad (38) \\ &= \text{Peso de muestra húmeda} \left( 1 - \frac{\text{Humedad}(\%)}{100} \right) \end{aligned}$$

Finalmente se obtiene que:

$$\begin{aligned} & \text{Rendimiento de aceite BH} (\%) \\ &= \frac{[\text{Peso de matraz con aceite} (g) - \text{Peso de matraz vacío} (g)] \left[ 1 - \frac{\text{Humedad}(\%)}{100} \right]}{\text{Peso de muestra seca} (g)} \quad (39) \\ & \quad (100) \end{aligned}$$

$$\text{Rendimiento de aceite BH} = [\text{Rendimiento de aceite BS}] \left[ 1 - \frac{\text{Humedad}(\%)}{100} \right] \quad (40)$$

Por otro lado, y ya no con el objetivo principal de cuantificar sino de extraer aceite en mayor volumen y menor tiempo, se utilizó el método descrito por Martínez-Padilla *et al.* (2018), en el cual se colocaron muestras de 90 g de pulpa de aguacate en matraces Erlenmeyer de 500 mL y fueron mezcladas con 90 mL de hexano (Grado analítico, MACRON, EUA). Los matraces fueron agitados por 1 minuto y calentados por 30 minutos a 60 °C en baños de temperatura constante, posteriormente fueron adicionados 90 mL de agua purificada Epura (Pepsico México; pH 6.38) y la mezcla se centrifugó (Hettich Universal 320, Alemania) con fuerza de 5020g (6550 rpm) por 30 min a 40 °C. La capa de hexano fue separada con una micropipeta y transferida a un matraz bola de 250 mL con fondo plano,

para ser tratada mediante destilación simple a temperatura aproximada de 75 °C retirando el hexano y así finalmente obtener un aceite limpio, después de llevar los matraces a peso constante en un horno de convección a 70 °C durante periodos de 30 min, esperando el enfriamiento de la muestra entre cada medición de masa. El aceite extraído de esta manera fue el evaluado para fines de comparación con el obtenido por microondas, a través de la determinación de índice de peróxidos, índice de yodo, índice de acidez y polifenoles totales.

### 2.5.2 Índice de peróxidos

La autooxidación de lípidos, así como la oxidación enzimática durante el procesamiento son comunes en grasas y aceites, son responsables de la deterioración de la calidad del aceite, afecta el color, sabor y especialmente el valor nutritivo (Matthäus, 2002). El índice de peróxidos se utiliza para cuantificar los miliequivalentes de oxígeno en forma de peróxido por kg de aceite por medio de una titulación, el cual debe ser  $\leq 10.0$  meq/kg (NMX-F-052-SCFI-2008).

De acuerdo con el método oficial 965.33 de la AOAC, se pesa  $5.00 \pm 0.05$  g de muestra en matraz Erlenmeyer tapado de 250 mL. Se agrega 30 mL de  $\text{CH}_3\text{COOH-CHCl}_3$  y agita hasta disolver. Agregar también 0.5 mL de solución saturada de KI, desde una pipeta mohr, dejando reposar con agitación ocasional de 1 min y agregar 30 mL de  $\text{H}_2\text{O}$ . Titular lentamente con 0.1 M  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  con agitación vigorosa hasta que el color amarillo se haya desaparecido casi completamente. Agregar 0.5 mL al 1% de solución indicadora de almidón y continuar con la titulación, agitando vigorosamente para liberar todo el  $\text{I}_2$  de  $\text{CHCl}_3$ , hasta que el color azul apenas desaparezca. Se realizó una determinación rutinaria con el blanco (debe ser  $\leq 0.1$  mL de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  0.1M). Sustraído de la muestra a titular. El índice de peróxido (miliequivalentes de peróxido/ kg de aceite) es:

$$\text{Índice de peróxidos} = \frac{(S)(M)(1000)}{g \text{ de muestra}} \quad (41)$$

Donde S= mL  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  (corregido con blanco) y M = molaridad de la solución de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ .

### 2.5.3 Índice de yodo

Se siguió el método oficial 920.158 de la AOAC. El índice de yodo se determinó para conocer de manera indirecta el grado de insaturación de los ácidos grasos que constituyen al aceite de aguacate, ya que el yodo se fija a los dobles enlaces presentes. Se pesan 0.25 g de aceite, en un matraz de vidrio de 500 mL con tapa y se disuelve en 10 mL de  $\text{CHCl}_3$ . Con una pipeta agregar 25 mL de solución Hanus de  $\text{I}_2$ , drenando la pipeta un tiempo definido y dejando reposar 30 min en un lugar oscuro, agitando ocasionalmente. El exceso de  $\text{I}_2$  debe ser  $\geq 60\%$  de la cantidad agregada. Agregar 10 mL de solución de KI al 15%, agitar exhaustivamente y agregar 100 mL de  $\text{H}_2\text{O}$  fresca, previamente hervida, lavando cualquier cantidad de  $\text{I}_2$  sobrante en la tapa. Titular  $\text{I}_2$  con  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  0.1M estándar, agregándola gradualmente, con agitación constante, hasta que la solución amarilla se torne casi incolora. Agregar algunas gotas de almidón indicador (mezclar 1 g de almidón soluble con suficiente  $\text{H}_2\text{O}$  fría para hacer una pasta ligera, agregar 100 mL de agua hirviendo y hervir 1 min mientras se agita) y continuar con la titulación hasta que el color azul desaparezca completamente. Hacia el final de la titulación, tapar el matraz y agitar vigorosamente, de manera que cualquier remanente de  $\text{I}_2$  en la solución de  $\text{CHCl}_3$  pueda ser tomado por la solución de KI. Se realizaron dos determinaciones del blanco junto con la determinación en la muestra. El número de mL de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  requeridos en el blanco (B) menos los mL usados en la determinación (S) proporciona el  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  equivalente de  $\text{I}_2$  absorbido por el aceite. Se calcula el porcentaje de peso de  $\text{I}_2$  absorbido (índice de  $\text{I}_2$ , por método Hanus):

$$\text{Índice de } I_2 = \frac{(B-S)(M)(12.69)}{g \text{ de muestra}} \quad (42)$$

Donde M es molaridad de la solución de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ .

#### **2.5.4 Índice de acidez**

Se realizó la determinación de índice de acidez basado en el método oficial 940.28 de la AOAC con la finalidad de conocer el porcentaje de ácidos grasos libres, presentes en la muestra de aceite de aguacate. Se pesaron 7.05 g de aceite (homogéneo) en un matraz de 250 mL. Se agregan 50 mL de alcohol, neutralizado previamente por la adición de 2 mL de solución de fenolftaleína y suficiente NaOH 0.1 M hasta producir una permanente coloración ligeramente rosada. Posteriormente se pesaron 56.4 g de aceite dentro del alcohol neutralizado y se tituló con NaOH 0.1 M, agitando la mezcla vigorosamente y con precaución hasta que la misma coloración ligeramente rosada aparezca en el alcohol sobrenadante. Multiplicar mL de NaOH 0.1 M por 0.05 y reportar como porcentaje de ácidos grasos libres, expresado como ácido oleico. Los ácidos grasos libres también pueden ser expresados en términos de índice de acidez (mg de KOH necesarios para neutralizar 1 g de aceite).

$$\text{Índice de acidez} = \text{Ácidos grasos libres (\%)} (\text{como oleico})(1.99) \quad (43)$$

#### **2.5.5 Polifenoles totales**

La cantidad de polifenoles totales se midió para conocer el efecto que tienen diferentes métodos de extracción sobre ésta. Son importantes por su actividad antioxidante y por lo tanto es deseable una alta cantidad de ellos presentes en el aceite resultante. La cantidad total de compuestos polifenólicos fue medida por el método descrito por Matthäus (2002). 150 mg del aceite fue disuelto en 10 mL de metanol y 2 mL de esta solución fue llenada con HCl 0.3% hasta 5 mL. Una alícuota de 100 µL de la solución resultante fue agregada a 2 mL de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 2% y después de 2 min, se agregaron 100 µL de agente Folin-Ciocalteu (Merck Darmstadt, Alemania) (diluido con metanol 1:1). Después de 30 minutos se midió la absorbancia a 750 nm utilizando un espectrofotómetro. La concentración fue calculada utilizando ácido gálico como estándar y los resultados fueron expresados como miligramos equivalentes de ácido gálico (GAE) por gramo de extracto.

### **2.5.6 Viscosidad de aceite de aguacate**

La medición de la viscosidad tanto del aceite extraído bajo las condiciones óptimas de microondas, ultrasonido y nivel de dilución en agua como del aceite extraído por hexano se realizó de la misma manera como se explicó en 2.3.3.

## CAPÍTULO III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 3.1 Parámetros de control

#### 3.1.1 Rendimiento y Humedad

Los parámetros de control de calidad del fruto de aguacate y su pulpa se evaluaron antes de cada tratamiento, asegurando que cada puré preparado sea similar, dado que el grado de madurez de los aguacates elegidos lo es y por lo tanto también su composición y estructura (lo cual conduce a sus propiedades reológicas). Asegurando de esta manera, la obtención de resultados reproducibles y facilitar el análisis de resultados al reducir la cantidad de variables estudiadas. Además se indica el número de lote como la fecha del día en que fueron realizadas las corridas, de manera que corridas del mismo lote fueron realizadas de la misma pulpa de aguacate y el mismo día, las condiciones de cada corrida, representada por una letra, vienen especificadas en el Cuadro 2.2.

El Cuadro 3.1 resume los resultados de humedad y rendimiento de la pulpa de los aguacates utilizados para la preparación de puré, con su respectivo lote y corrida.

Cuadro 3.1. Rendimiento y humedad del puré de aguacate.

<b>Lote (DDMMAAAA)</b>	<b>Corrida</b>	<b>Rendimiento (%)</b>	<b>Humedad (%)</b>
<b>15112017</b>	<b>A, B y C</b>	62.72	72.52±0.11
<b>21112017</b>	<b>A, B y C (réplica)</b>	60.15	76.14±0.27
<b>13112017</b>	<b>D, E y F</b>	66.23	72.13±0.17
<b>14112017</b>	<b>G</b>	67.65	69.73±0.26
<b>22112017</b>	<b>D, E, F y G (réplica)</b>	64.69	76.51±0.20
<b>29112017</b>	<b>H, I</b>	72.03	70.49±0.28
<b>01122017</b>	<b>H, I (réplica)</b>	63.18	71.41±0.27

En primer lugar se encuentra el rendimiento (%) el cual está relacionado directamente con la cantidad de pulpa de aguacate utilizable para preparar puré, si el rendimiento es alto, la cantidad comestible o pulpa también lo es. Un alto

rendimiento garantiza un fruto en óptimo estado de madurez (Martínez-Padilla *et al.* 2018); cuando el fruto es aún inmaduro, su textura es lo suficientemente firme para que sea difícil la extracción de la pulpa que se encuentra fuertemente adherida a su cáscara y que por su alto contenido de polisacáridos (el cual se reduce al madurar el fruto) es difícil de moler para preparar puré y difícil de tratar con microondas o ultrasonido para la extracción del aceite, por un lado porque el procesador ultrasónico necesita que el material a tratar sea fluido y por otro lado los trozos sólidos del aguacate dificultan la difusión del aceite desde su interior hacia el exterior por la reducida movilidad relativa de sus moléculas (esto sin considerar la relación que existe entre el contenido de aceite y la madurez del fruto, ya que Martínez-Padilla *et al.*, 2018 encontraron una relación inversa entre la humedad del fruto y el contenido de aceite extraíble). En el caso contrario, cuando la madurez es excesiva, el fruto comienza a mostrar podredumbre en algunas zonas que se retiran necesariamente, con la finalidad de obtener un puré de buena calidad, reduciéndose el rendimiento. El rendimiento de las muestras estudiadas se encontró en promedio en  $65.24 \pm 3.9\%$  en el caso del estudio de Martínez-Padilla *et al.* (2018) el rendimiento obtenido fue de  $69.5 \pm 1.6\%$  y el reportado por Tamara de Souza *et al.* (2015) fue de  $64.72 \pm 9.51\%$ , el obtenido en el presente estudio fue intermedio a los referenciados bibliográficamente y dicha diferencia se atribuye a la época de cosecha, clima de la región, etc. Por un lado, los aguacates utilizados por Tamara de Souza *et al.* (2015) fueron obtenidos en la ciudad de Rio Paraníba en época de invierno con temperaturas promedio de  $13\text{ }^{\circ}\text{C}$ , por otro lado, Martínez-Padilla *et al.* (2018) obtuvieron los aguacates en mercados locales de Australia y/o Nueva Zelanda entre diciembre y abril cuya temperatura promedio es de  $20\text{ }^{\circ}\text{C}$  y finalmente en el presente estudio los aguacates se obtuvieron entre noviembre y diciembre en Walmart Cuautitlán, época correspondiente a final de otoño e inicio de invierno con temperatura promedio de entre  $13\text{ y }15\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Claramente se nota que al ser el aguacate un fruto tropical se ve favorecida su maduración en épocas con temperaturas mayores por lo tanto concuerda que el mayor rendimiento de pulpa fue el reportado por Martínez-Padilla *et al.* (2018), mientras que el menor fue el obtenido por Tamara

de Souza *et al.* (2015), siendo éste último muy parecido al reportado para el presente proyecto, cuyas diferencias de temperatura de la región en la época de estudio y del rendimiento de la pulpa fueron muy bajas.

Cuadro 3.2. Análisis de varianza del rendimiento de pulpa de aguacate como factor y rendimiento de aceite (RA) como variable de respuesta.

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Rendimiento	3	116.2	38.73	2.43	0.120
Error	11	175.4	15.94		
Total	14	291.6			

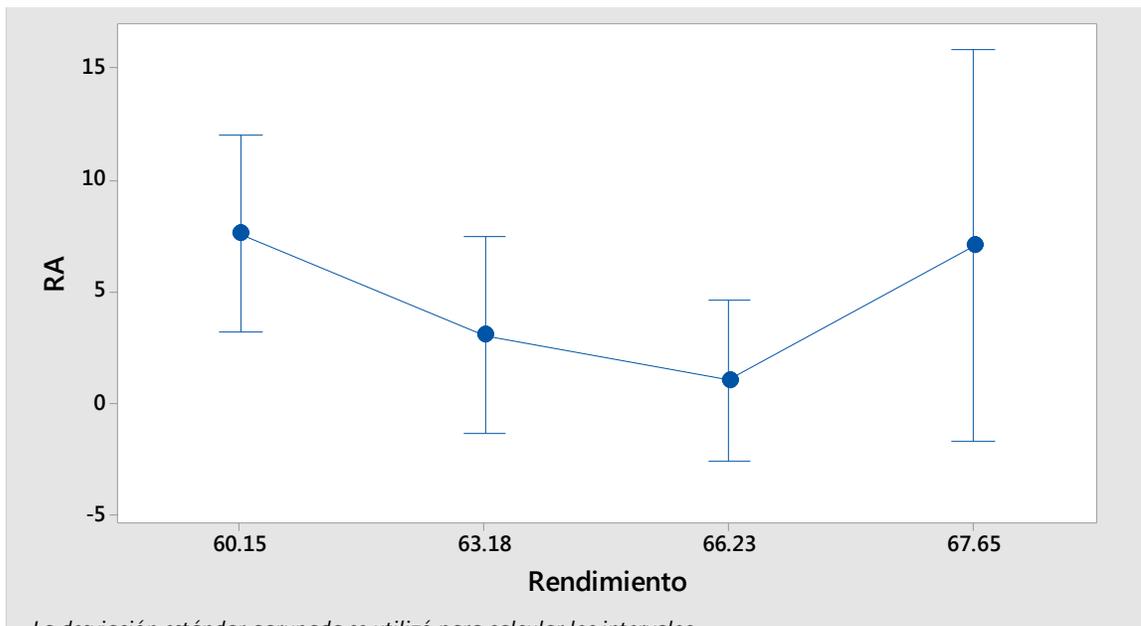


Figura 3.1. Intervalos de rendimiento de aceite (RA) en función del rendimiento de la pulpa.

El Cuadro 3.2 y la Figura 3.1 son la confirmación de la hipótesis nula, por lo que el rendimiento de pulpa no tiene efecto sobre RA, por lo que su elección como parámetro de calidad fue correcta.

Con respecto a la humedad (%) y de acuerdo a la recomendación hecha por Osuna-García *et al.* (2010), donde sugiere que los frutos cuyos epicarpios mostraran alto grado de ennegrecimiento, se puede tomar como valor base promedio un porcentaje de materia seca de 34.7%, es decir, frutos con porcentaje de humedad promedio de 65.3%, para poder asegurar un buen estado de madurez del aguacate, sin embargo al no haber diferencias significativas entre los valores seguidos de las mismas letras (véase Cuadro 1.3), se podría tomar un valor mínimo de 33.0% de materia seca (67.0% de humedad) y seguir concordando con los resultados establecidos por Osuna-García *et al.* (2010). Es decir, si la pulpa de aguacate tiene humedad dentro del intervalo de 65.3-67%, entonces el aguacate es considerado como “aguacate maduro, listo para ser consumido”, asegurando de esta forma su adecuado grado de madurez para ser utilizado en la elaboración del puré y posterior extracción de aceite.

Las diferencias de humedad obtenidas en los aguacates del presente estudio con respecto a los valores de humedad obtenidos por Osuna-García *et al.* (2010), se deben a que su estudio no reporta resultados para la época del año en el cual se realizó el presente proyecto (Septiembre-Diciembre), y como se puede observar en el Cuadro 1.3, la composición del fruto depende de la temporada de cosecha por lo que es razonable encontrar diferencias entre la humedad de aguacates cosechados en una época del año y la obtenida en aguacates cosechados en otra, sin embargo, los resultados representan una buena aproximación a los valores promedio antes mencionados, que en dado caso y puesto que, en la época omitida por Osuna-García *et al.* (2010) el fruto no tiene un alto grado de madurez, los valores de humedad que pudo haber obtenido tienen que ser mayores al intervalo mencionado y no menores (por tratarse de un fruto tropical), lo que concuerda con los resultados presentados en el Cuadro 3.1.

La mayor variación de humedad, con respecto al promedio tomado como referencia, se presentó para el lote 22112017, correspondiente para las corridas D, E, F y G (réplica) cuya humedad fue de  $76.51 \pm 0.20$ , que no entra en el

intervalo de humedad mencionado pero que como ya se señaló, al tratarse de un fruto tropical, la época en la que se realizó el estudio, no favorece su maduración y por lo tanto la humedad tiende a ser mayor que los promedios mostrados por Osuna-García *et al.* (2010). Además, por otro lado, las propiedades reológicas y el rendimiento de pulpa, se encuentran próximas al promedio de los demás lotes (con coeficientes de variación de 16% y 5.9%, respectivamente) y por lo tanto no se descartó el 22112017 y por consecuencia del razonamiento anterior, no se descartó ningún otro de los mostrados en el Cuadro 3.1. Además, el coeficiente de variación de los resultados de humedad fue de 3.6%.

Cuadro 3.3. Análisis de varianza del contenido de humedad de la pulpa de aguacate como factor y rendimiento de aceite (RA) como variable de respuesta.

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Humedad	3	116.2	38.73	2.43	0.120
Error	11	175.4	15.94		
Total	14	291.6			

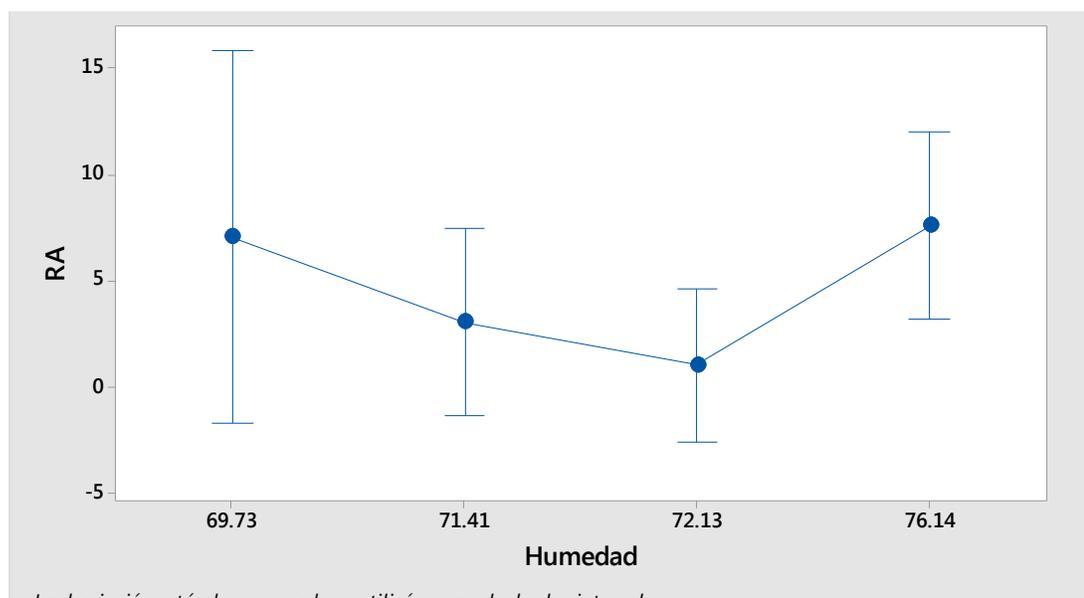


Figura 3.2. Intervalos de rendimiento de aceite (RA) en función del contenido de humedad del puré de aguacate.

El Cuadro 3.3 muestra que para la humedad  $p > 0.05$  y la Figura 3.2 lo confirma gráficamente observando que todos los intervalos se intersectan con respecto a la línea imaginaria horizontal que sale de cada límite, implicando que el contenido de humedad de la pulpa de aguacate utilizado para la selección de frutos maduros no afecta sobre el RA, por consiguiente, el porcentaje de humedad si puede ser utilizado como parámetro de control de calidad de la materia prima sin que sus variaciones afecten los resultados de RA y por lo tanto no debe ser considerado como un factor si se encuentran diferencias significativas de RA entre las muestras.

### 3.1.2 Reología del puré de aguacate

En cuanto a la determinación de las propiedades viscoelásticas (utilizadas también como control de calidad), se muestra en la Figura 3.3, la gráfica representativa del barrido de deformación, delimitando la zona de viscoelasticidad lineal a frecuencia angular constante de 10 rad/s. Como puede observarse, la zona viscoelástica lineal se mantuvo entre deformación de 0.01 y 0.1%, es decir  $G'$  y  $G''$  son funciones constantes de la deformación aplicada y ésta se encuentra entre 0.01 y 0.1, en todas las corridas evaluadas. El intervalo de deformación fue elegido de manera arbitraria bajo la consideración de que éste fuera muy pequeño para asegurar que  $G'$  y  $G''$  se mantuvieran constantes.

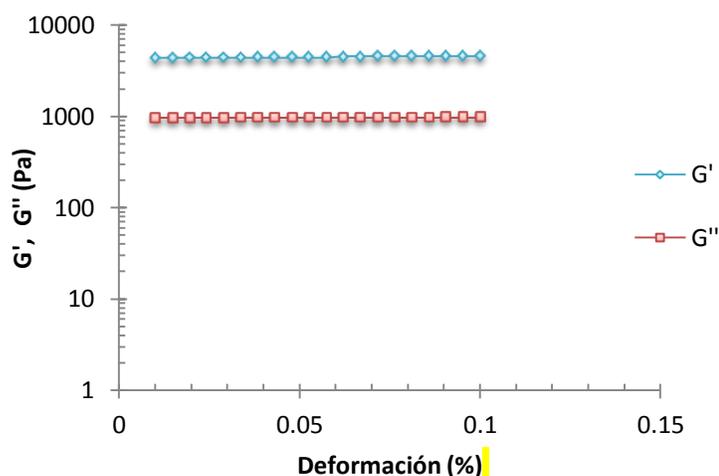


Figura 3.3. Barrido de deformación en puré de aguacate a 10 rad/s.

Posteriormente se realizó el barrido de frecuencia angular, manteniendo una deformación constante de 0.05% (intermedio de la zona de viscoelasticidad lineal obtenida), en un intervalo de 0.1 a 100 rad/s. Se obtuvieron gráficas, como la representativa mostrada en la Figura 3.4. Donde claramente se muestra la ligera tendencia a aumentar de  $G'$  y  $G''$  al aumentar la frecuencia angular y donde siempre  $G' > G''$ , mientras que  $\eta^*$  presenta una disminución exponencial cuya ecuación tiene la forma  $Y = AX^n$ , cuya  $n < 0$ .

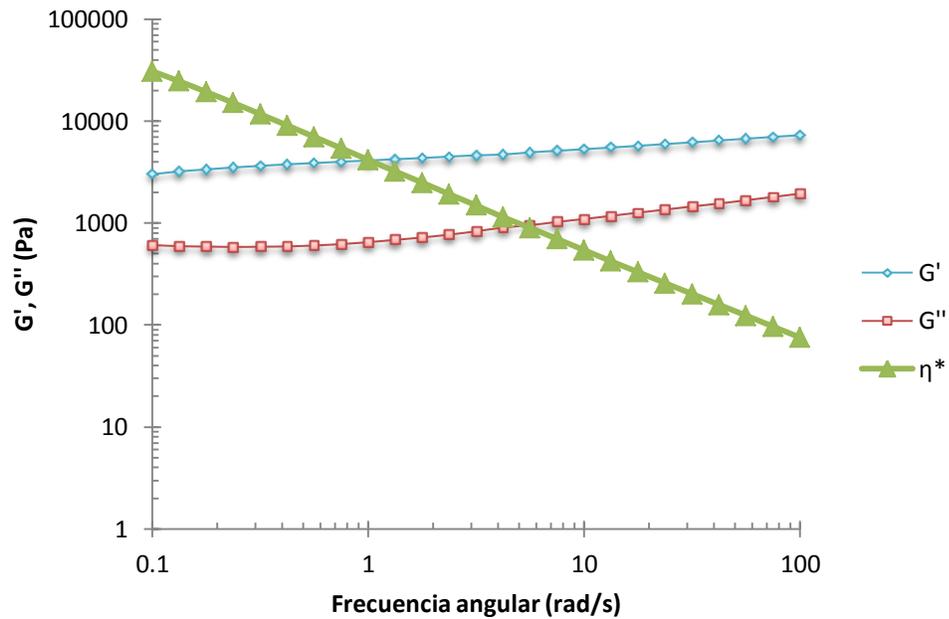


Figura 3.4. Barrido de frecuencia angular en intervalo de 0.1 a 100 rad/s, en puré de aguacate.

En el Cuadro 3.4, se resumen los resultados promedio más importantes de las pruebas reológicas, módulo elástico ( $G'$ ), módulo viscoso ( $G''$ ) y viscosidad compleja ( $\eta^*$ ), de cada corrida experimental evaluadas a 10 rad/s.

Cuadro 3.4. Módulo de almacenamiento ( $G'$ ), módulo viscoso ( $G''$ ),  $\tan \delta$  y viscosidad compleja ( $\eta^*$ ) del puré de aguacate, presentados como control de calidad de materia prima.

Lote (DDMMAAAA)	Corrida	$G'$ (Pa)	$G''$ (Pa)	Tan $\delta$	$\eta^*$ (Pa s)
15112017	A, B y C	4372.6±105.0	968.6±10.5	0.066±0.000	447.8±10.6
21112017	A, B y C (réplica)	3824.0±53.7	837.5±16.0	0.066±0.000	391.5±5.6
13112017	D, E y F	4390.0±111.7	915.2±17.1	0.066±0.000	448.4±11.2
14112017	G	5706.5±255.1	1268.8±38.4	0.066±0.000	584.5±25.7
22112017	D, E, F y G (réplica)	4003.0±140.4	900.5±26.5	0.066±0.000	410.2±14.2
29112017	H, I	4164.0±196.6	907.2±46.3	0.066±0.000	426.2±20.3
01122017	H, I (réplica)	5667.3±95.3	1270.6±7.4	0.066±0.000	580.7±9.3

Se observa que en todos los casos el módulo elástico ( $3824.0 \text{ Pa} \leq G' \leq 5706.5 \text{ Pa}$ ) es mayor al viscoso ( $837.5 \text{ Pa} \leq G'' \leq 1270.6 \text{ Pa}$ ) lo que significa que predomina el comportamiento sólido en el puré de aguacate, por lo que se puede afirmar que éste se comporta como un sólido viscoelástico.

Se reportaron módulos de puré de aguacate obtenido por un método mecánico (utilizando también un procesador de alimentos, durante 1 minuto), entre 2509-3009 Pa de  $G'$  y 297 - 419 Pa de  $G''$ , las diferencias entre módulos se atribuyen al proceso de preparación o inclusive al grado de madurez de los aguacates. Por otro lado, el puré elaborado con tratamiento manual presentó valores de los módulos de:  $G' \sim 4000\text{-}9000 \text{ Pa}$  y  $G'' \sim 800\text{-}1100 \text{ Pa}$ , más parecidos a los resultados mostrados en el Cuadro 3.4 del presente proyecto, pero aún mayores, debido la menor ruptura del tejido celular que conlleva el tratar al fruto manualmente y no con un procesador de alimentos de alta velocidad (Martínez-Padilla *et al.*, 2017).

En cuanto a la viscosidad compleja, ésta se reduce en purés de aguacate con menor cantidad de sólidos (mayor contenido de humedad), lo que quiere decir que la viscosidad compleja guarda una relación inversa con el contenido de humedad, aunque gráficamente  $\eta^*$  no cambia en ningún lote, ya que las curvas de viscosidad

compleja resultantes del barrido de velocidad angular se sobreponen entre ellas en todas las corridas, por lo que se presentó únicamente una curva como representativa en la Figura 3.4. Por otro lado, la viscosidad compleja es utilizada como representativa de la reología del puré pues está compuesta por ambos módulos; elástico y viscoso bajo condiciones de no flujo (Martínez-Padilla *et al.*, 2017). Dado que ya se conoce el predominio del estado sólido, entonces un aumento en la viscosidad compleja sólo puede significar un aumento de uno o ambos módulos, con la condición de que siempre  $G' > G''$ . Se puede entender la viscosidad compleja en analogía con la más conocida viscosidad dinámica, pero aplicada en materiales viscoelásticos, como la resistencia del material a la deformación, resultado de la aplicación de alguna fuerza neta. Las Ecuaciones 23, 24 y 25 muestran la relación que existe entre la viscosidad compleja y los módulos elástico y viscoso.

El valor de  $\tan \delta$  es el mismo en todas las muestras (lo que significa que siguen el mismo comportamiento viscoelástico) y como  $\tan \delta \approx \delta$ , para valores muy pequeños de  $\delta$ , entonces el ángulo es aproximadamente 0.066 rad, lo cual reafirma el comportamiento predominantemente sólido por la deformación casi instantánea que sufre el puré cuando le es aplicada la cizalla oscilatoria, visto de otra forma, como  $\tan \delta$  es igual a  $G''/G'$  (Ecuación 27), es claro que  $G' \gg G''$ , lo que implica que el material almacena gran parte de la energía deformándose como sólido y pierde poca fluyendo con líquido. Por otro lado, los valores de viscosidad compleja oscilaron entre 391.5 y 584.5 Pa s, muy alta si es comparada con la viscosidad de agua, la cual es 0.0009 Pa s @ 25 °C, es decir, la viscosidad de la pulpa de aguacate es entre 435,000 y 649,444.4 veces mayor que la viscosidad de referencia.

Por último relacionando los parámetros de calidad de la pulpa de aguacate, se presentan coeficientes de variación de 3.6, 5.9 y 16.9% para humedad, rendimiento de pulpa y viscosidad compleja, respectivamente. El parámetro con mayor variación fue la viscosidad compleja y posteriormente se presenta su

análisis de varianza (Cuadro 3.14) para concluir sobre si tiene o no efecto significativo sobre el rendimiento de aceite extraído por ultrasonido y/o microondas (RA). Martínez-Padilla *et al.* (2018) afirman que la reología si influye sobre el rendimiento de aceite extraído de aguacate, sin embargo en éste proyecto se verificará si existe tal efecto bajo sus condiciones particulares utilizadas, en caso de que no exista significará que el uso de la reología como parámetro de control de calidad fue adecuado.

El mayor porcentaje de rendimiento de pulpa obtenido fue de 72.03%, mientras que el menor fue de 60.15%, los cuales corresponden a los aguacates cuya pulpa presentó humedad de 70.49% y 76.14%, respectivamente, y cuyos valores de viscosidad compleja fueron de 426.2 Pa s y 391.5 Pa s, respectivamente, lo que significa que el rendimiento de pulpa guarda una relación inversa con el porcentaje de humedad y una relación directa con la viscosidad compleja mientras que la humedad y la viscosidad compleja tienen una relación inversa entre sí. Lo anterior indica que un alto rendimiento del fruto es consecuencia de una cantidad mayor de sólidos (menor contenido de humedad), lo que resulta de un mayor grado de madurez, restringiéndose los valores bajos de humedad al intervalo señalado anteriormente, ya que con humedades menores al 65.3% promedio el aguacate tiene mayor grado de madurez y por lo ya explicado, el rendimiento de pulpa utilizable para extracción se ve reducido.

### **3.2. Efecto de los tratamientos aplicados en el pH y su relación con el rendimiento de extracción de aceite (RA)**

En el Cuadro 3.5 se muestra el rendimiento de aceite de cada corrida y el pH medido antes y después de cada tratamiento, además del cambio de pH ( $\Delta$ pH).

Cuadro 3.5. Rendimiento de aceite (RA) extraído en cada corrida, con el pH de antes y después de cada tratamiento y el valor del cambio de pH.

Lote (DDMMAAAA)	Corrida	RA (%)	pH antes del tratamiento	pH después del tratamiento	$\Delta$ pH
21112017	A1	6.18	6.9±0.02	6.82±0.03	-0.08
21112017	A2	0	6.9±0.02	6.9±0.02	0
21112017	B1	0	6.9±0.02	6.9±0.02	0
21112017	B2	16.62	6.9±0.02	7.33±0.32	0.43
21112017	C1	7.71	6.9±0.02	6.64±0.03	-0.26
21112017	C2	0	6.9±0.02	6.9±0.02	0
13112017	D1	0	6.8±0.04	6.75±0.04	-0.05
13112017	D2	6.41	6.8±0.04	7.09±0.01	0.29
13112017	E1	0	6.8±0.04	6.71±0.03	-0.09
13112017	E2	0	6.8±0.04	7.54±0.08	0.74
13112017	F1	0	6.8±0.04	6.76±0.06	-0.04
13112017	F2	0	6.8±0.04	6.64±0.03	-0.16
14112017	G1	7.09	7.02±0.19	7.64±0.37	0.62
22112017	G2	0	6.75±0.19	6.77±0.35	0.02
01122017	H1	0	6.82±0.17	7.02±0.35	0.2
01122017	H2	0	6.82±0.17	6.7±0.16	-0.12
01122017	I1	3.09	6.82±0.17	7.09±0.37	0.27
01122017	I2	0	6.82±0.17	6.75±0.16	-0.07

La desviación estándar del pH fue muy baja ( $\leq 0.19$ ) entre los purés preparados antes del tratamiento con microondas y/o ultrasonido, ya que se trató de hacer la mayor cantidad de corridas posibles de los mismos lotes. Por otro lado el pH después del tratamiento aumentó o disminuyó sin una tendencia específica y el cambio de pH fue muy bajo. El Cuadro 3.6 muestra el análisis de varianza de  $\Delta$ pH como variable de respuesta en función de los factores MO, US y A lineales, su interacción y sus términos cuadrados, el cual indica que ningún factor tiene efecto significativo sobre el cambio de pH, dado que todos los valores de  $p > 0.05$ , mientras que la Figura 3.5 confirman este comportamiento, mostrando que

ninguna barra de efectos estandarizados sobrepasa la línea punteada que señala el nivel de significancia del modelo.

Cuadro 3.6. Análisis de varianza de  $\Delta$ pH como variable de respuesta y tratamientos de microondas (MO), ultrasonido (US) y dilución (A) como factores.

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Modelo	9	0.93544	0.103938	2.09	0.216
Lineal	3	0.64705	0.215683	4.33	0.074
MO	1	0.27380	0.273800	5.50	0.066
US	1	0.23805	0.238050	4.78	0.080
A	1	0.13520	0.135200	2.72	0.160
Cuadrado	3	0.18109	0.060364	1.21	0.396
MO*MO	1	0.01117	0.011169	0.22	0.656
US*US	1	0.01117	0.011169	0.22	0.656
A*A	1	0.15517	0.155169	3.12	0.138
Interacción de 2 factores	3	0.10730	0.035767	0.72	0.582
MO*US	1	0.04000	0.040000	0.80	0.411
MO*A	1	0.05290	0.052900	1.06	0.350
US*A	1	0.01440	0.014400	0.29	0.614
Error	5	0.24885	0.049770		
Falta de ajuste	3	0.24885	0.082950	*	*
Error puro	2	0.00000	0.000000		
Total	14	1.18429			

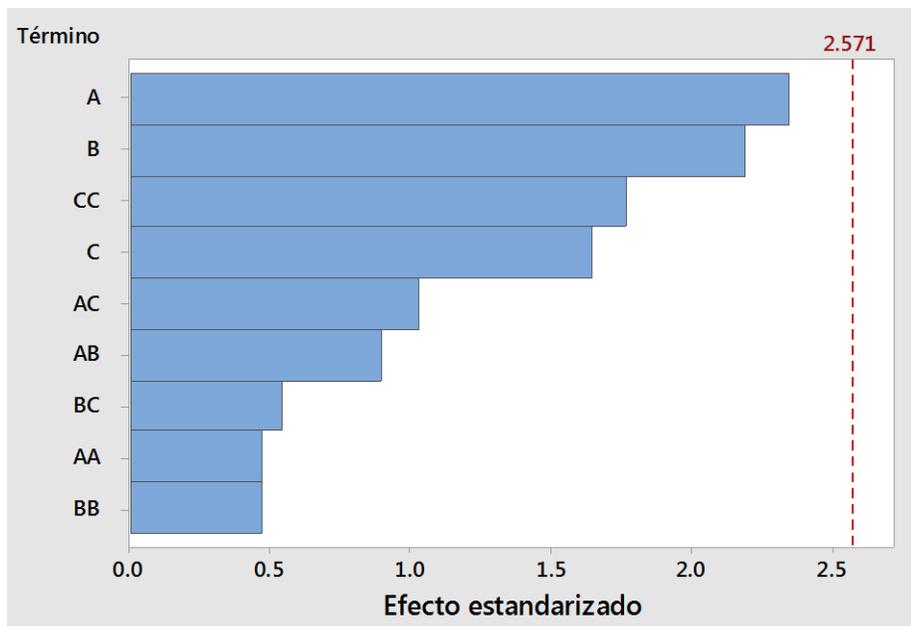


Figura 3.5. Diagrama de Pareto de efectos estandarizados para  $\Delta pH$  como variable de respuesta y tratamientos con microondas (MO), ultrasonido (US) y nivel de dilución (A) como factores.

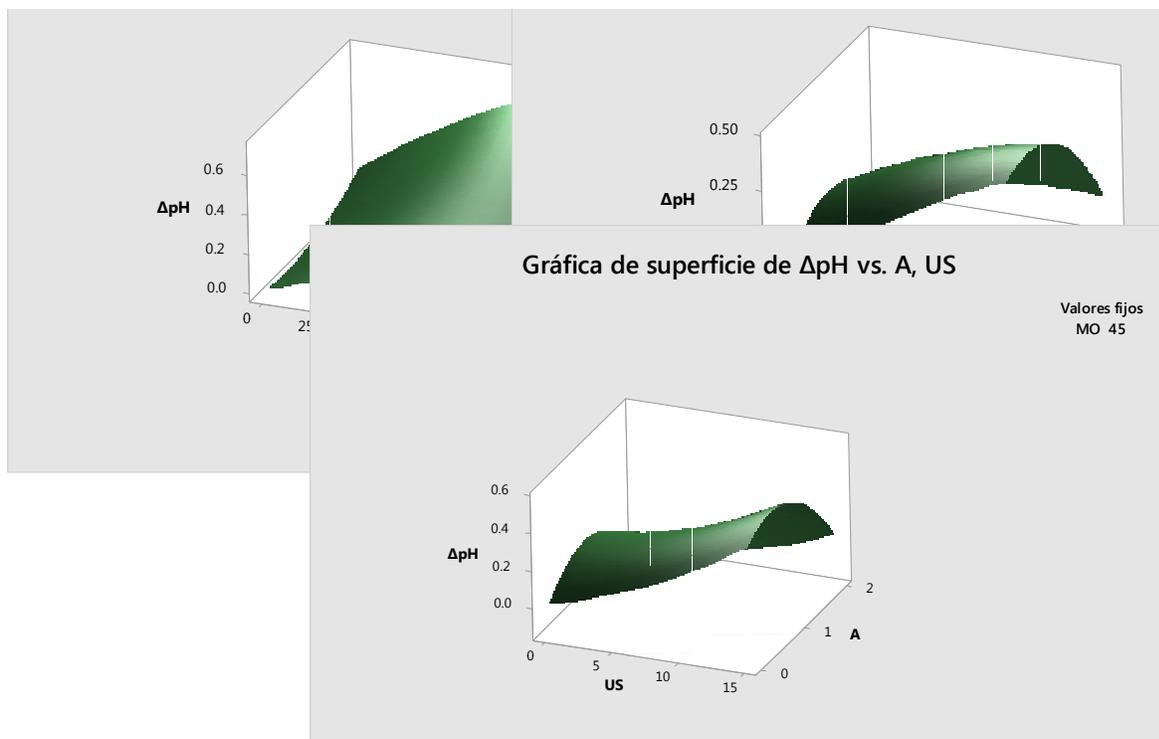


Figura 3.6. Superficies de respuesta de  $\Delta pH$  en función de tratamientos de ultrasonido (US), microondas (MO) y nivel de dilución (A).

Por otro lado la Figura 3.6 muestra la tendencia de  $\Delta pH$  a aumentar al hacerlo el tiempo de aplicación de US y MO, mientras que aumenta con el nivel intermedio de A, sin embargo sólo representa valores positivos de  $\Delta pH$  que únicamente muestra la magnitud de las variaciones pero no indica si el pH después del tratamiento es menor o mayor al pH inicial del puré, al aplicar los tratamientos US, MO y A. Analizando la Ecuación 44 que representa el modelo de  $\Delta pH$ , se puede afirmar lo que ya se mostró en la Figura 3.6, ya que MO, US y A están precedidos de coeficientes positivos, por lo que aumentan el pH de los purés mientras que los factores  $MO^2, A^2, MO \times A, US \times A$  y el término independiente lo reducen.

$$\Delta pH = -0.237 + 0.00689MO + 0.003US + 0.455A - 0.000027MO^2 + 0.00098US^2 - 0.205A^2 + (0.000296MO \times US) - (0.00256MO \times A) - (0.008US \times A) \quad (44)$$

El pH inicial (del puré antes de los tratamientos de US, MO y A) fue tomado en cuenta para encontrar si éste tuvo efecto sobre el rendimiento de aceite después de aplicar los respectivos tratamientos, al presentar  $p < 0.05$  se acepta la hipótesis alterna, concluyendo que el pH del puré de aguacate si influye sobre el rendimiento de extracción del aceite de aguacate (Cuadro 3.7 y Figura 3.7). Atribuyendo este efecto a la formación de emulsiones una vez liberado el aceite de las células, donde el tratamiento ultrasónico, la adición de agua y su interacción promueven la dispersión del aceite en el agua del medio y ya que la estabilidad de los sistemas dispersos se ve afectada por el pH, específicamente afectando la distribución del tamaño de glóbulo de aceite. Al tener el aguacate alto contenido de proteínas (Schaffer *et al.*, 2013), probablemente son éstas las que estabilizan las emulsiones formadas al dispersarse el aceite en el medio acuoso del puré, de manera que el pH del puré afecte la interacción de tales proteínas entre ellas mismas y con las interfaces aceite-agua principalmente si el pH se encuentra en valores cercanos a los puntos isoeléctricos (pI) de las proteínas presentes (Dickinson, 2003), influyendo a su vez sobre la cantidad de aceite extraíble del puré.

Cuadro 3.7. Análisis de varianza del pH de puré de aguacate antes de ser tratado, como factor y rendimiento de aceite (RA) como variable de respuesta.

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
pH	8	258.25	32.281	5.81	0.023
Error	6	33.33	5.554		
Total	14	291.57			

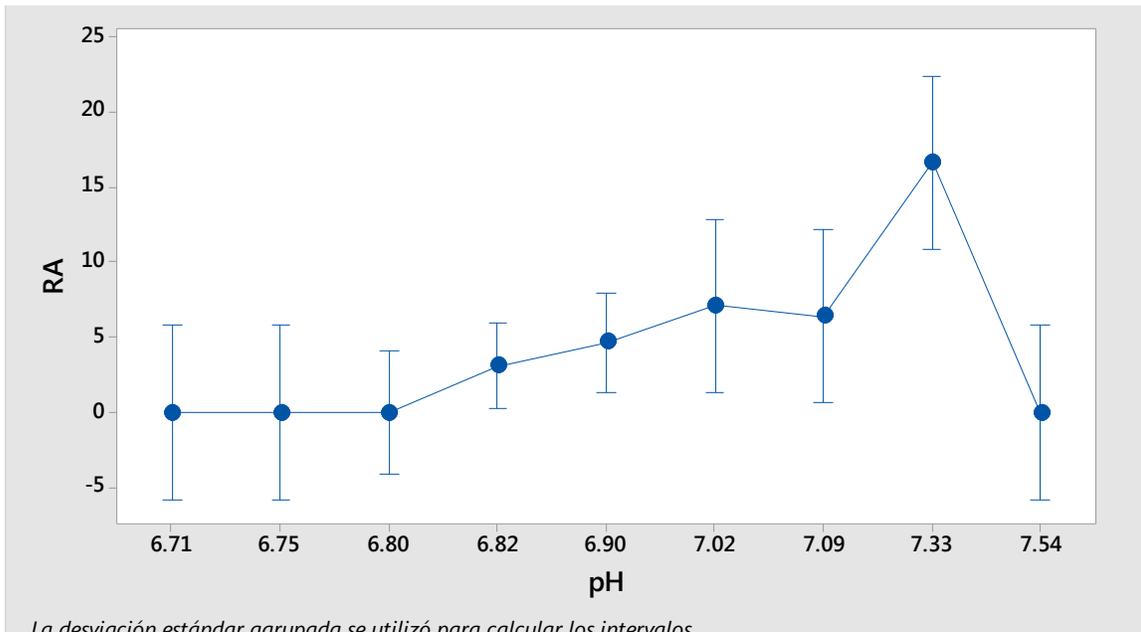


Figura 3.7. Intervalos de rendimiento de aceite (RA) en función del pH inicial de puré de aguacate.

### 3.3 Efecto de los tratamientos aplicados en el tamaño de partícula

En cuanto al tamaño de partícula en el Cuadro 3.8 se presentan los valores obtenidos antes (control) y después de cada tratamiento, con sus respectivas modas, debido a que no todos fueron monomodales. La muestra control fue una de las más heterogéneas, mostrando 3 o 4 modas, sin embargo, en ambas la mayor densidad de distribución se encuentra con diámetro cerca de 90  $\mu\text{m}$ . Al contrario las corridas B2, C1, D2, G1 y G2 realizadas del primer lote, presentan únicamente 1 moda, los cinco casos con diámetro de aproximadamente 85  $\mu\text{m}$  con densidad de distribución de aproximadamente 7.20, valores casi idénticos a la

moda con mayor densidad de distribución de la muestra control, lo que sugiere que después de los tratamientos hubo homogeneización en la distribución de partículas pequeñas, mientras que la mayor moda de la muestra donde se encuentran las partículas con diámetros cercanos a los 90  $\mu\text{m}$  no cambió de manera importante. En general se observa disminución del número de modas (homogeneización) tras el tratamiento con ultrasonido y/o microondas a excepción de las corridas A2, B1 y C2, las cuales únicamente fueron diluidas, es decir, la dilución no afectó al tamaño de partícula, ya que finalmente la prueba fue llevada a cabo diluyendo aún más la muestra en el contenedor del granulómetro láser (debido a que la medición se realizó por vía húmeda), hasta alcanzar una obscuración de aproximadamente 10%, lo que significa que todas las muestras al final alcanzaron una dilución similar y por lo tanto los resultados de la muestra control y de las tres corridas ya mencionadas deben ser iguales estadísticamente.

Por otro lado, la mayor densidad de distribución se encuentra en promedio en un diámetro de 89.62  $\mu\text{m}$  (para todas las corridas), por lo que es esperado encontrar diámetros medios de puré similares, antes y después de ser tratados por US y/o MO, lo cual se observa con facilidad en el Cuadro 3.8 (A) donde  $\bar{x} \sim 80.06 - 95.91$ , mientras que en el Cuadro 3.8 (B) la variación es claramente mayor  $\bar{x} \sim 67.21 - 106.75$ , aunque en promedio  $\bar{x}$  sigue aproximándose a 89.62  $\mu\text{m}$ . El Cuadro 3.9, confirma lo anterior al comprobar que los tratamientos no tienen efecto significativo sobre el tamaño medio de partícula ya que  $p > 0.05$  y la Figura 3.8 lo confirma gráficamente. Aunque no hay efecto significativo, se observa que el aumento en el tiempo de tratamiento con microondas reduce el tamaño medio de partículas en el puré con mayor intensidad que el ultrasonido, mientras que la adición de agua lo aumenta (Figura 3.9). Por un lado las microondas destruyen las células del aguacate por las altas presiones alcanzadas en su interior debido a la formación de vapor de agua por el calentamiento producido, reduciendo el tamaño medio de partículas en el puré, los resultados obtenidos acerca del efecto no significativo del tiempo de aplicación de MO sobre el tamaño de partícula son confirmados por Zhou *et al.* (2016), por otro lado el ultrasonido reduce el tamaño de partícula

debido a la cavitación, la cual rompe las paredes celulares. Ambos fenómenos que dan origen a la ruptura celular dependen del agua contenida en el puré de aguacate pero especialmente es la cavitación la que se ve potenciada por la adición de agua, esto se confirma ya que en la Figura 3.8 los factores BC tienen mayor efecto que el factor B. Mientras que la pura adición de agua aumenta el tamaño medio de partícula, debido a la hidratación de los hidrocoloides y proteínas (Dickinson, 2003) presentes en el aguacate.

Cuadro 3.8. Distribución de tamaño de partículas por número de modas que presentó cada corrida, donde  $x$  es el diámetro ( $\mu\text{m}$ ), Q3 el valor acumulativo (%),  $q3$  la densidad de distribución,  $\bar{x}$  el diámetro medio de la muestra y  $s$  el índice de polidispersidad. A) y B) difieren de lote y para fines comparativos cada uno tiene su muestra control.

A	MODAS	x	Q3	q3	$\bar{x}$	s
Control	<b>Moda 1</b>	3.07±0.12	2.24±0.23	0.29±0.03	94.94±0.98	1.93±0.04
	<b>Moda 2</b>	22.00±0.00	11.08±0.36	0.83±0.02		
	<b>Moda 3</b>	85.00±0.00	56.39±0.20	7.60±0.04		
A1	<b>Moda 1</b>	3.20±0.00	1.85±0.06	0.22±0.01	80.06±0.78	1.63±0.00
	<b>Moda 2</b>	80.00±0.00	57.20±0.45	7.57±0.02		
A2	<b>Moda 1</b>	3.07±0.12	2.24±0.23	0.29±0.03	94.94±0.98	1.93±0.04
	<b>Moda 2</b>	22.00±0.00	11.08±0.36	0.83±0.02		
	<b>Moda 3</b>	85.00±0.00	56.39±0.20	7.60±0.04		
B1	<b>Moda 1</b>	3.07±0.12	2.24±0.23	0.29±0.03	94.94±0.98	1.93±0.04
	<b>Moda 2</b>	22.00±0.00	11.08±0.36	0.83±0.02		
	<b>Moda 3</b>	85.00±0.00	56.39±0.20	7.60±0.04		
B2	<b>Moda 1</b>	85.00±0.00	58.99±1.23	7.32±0.07	88.81±0.82	1.74±0.06
C1	<b>Moda 1</b>	85.00±0.00	58.25±0.47	7.53±0.19	90.63±2.11	1.81±0.09
C2	<b>Moda 1</b>	3.07±0.12	2.24±0.23	0.29±0.03	94.94±0.98	1.93±0.04
	<b>Moda 2</b>	22.00±0.00	11.08±0.36	0.83±0.02		
	<b>Moda 3</b>	85.00±0.00	56.39±0.20	7.60±0.04		
D1	<b>Moda 1</b>	3.20±0.00	2.62±0.08	0.35±0.06	91.67±2.22	1.90±0.05
	<b>Moda 2</b>	85.00±0.00	57.57±0.69	7.38±0.19		
D2	<b>Moda 1</b>	81.67±2.89	59.83±0.65	7.11±0.29	81.72±5.64	1.80±0.09
G1	<b>Moda 1</b>	85.00±0.00	59.14±1.69	7.22±0.12	90.07±2.75	1.91±0.02
G2	<b>Moda 1</b>	85.00±0.00	56.52±0.93	7.20±0.11	95.91±2.24	2.11±0.01

Cuadro 3.8. Distribución de tamaño de partículas por número de modas que presentó cada corrida, donde  $x$  es el diámetro ( $\mu\text{m}$ ), Q3 el valor acumulativo (%),  $q_3$  la densidad de distribución,  $\bar{x}$  el diámetro medio de la muestra y  $s$  el índice de polidispersidad. A) y B) difieren de lote y para fines comparativos cada uno tiene su muestra control (continuación).

<b>B</b>	<b>MODAS</b>	<b>x</b>	<b>Q3</b>	<b>q3</b>	<b><math>\bar{x}</math></b>	<b>s</b>
<b>Control</b>	<b>Moda 1</b>	1.10±0.00	0.94±0.09	0.16±0.00	73.58±3.86	1.80±0.07
	<b>Moda 2</b>	3.00±0.00	3.65±0.34	0.48±0.03		
	<b>Moda 3</b>	17.00±0.00	19.20±1.42	1.72±0.14		
	<b>Moda 4</b>	93.33±5.77	67.10±1.62	6.84±0.40		
<b>E1</b>	<b>Moda 1</b>	15.00±0.00	23.85±3.45	2.09±0.22	69.92±5.66	2.29±0.12
	<b>Moda 2</b>	85.00±5.00	65.56±1.64	5.75±0.47		
<b>E2</b>	<b>Moda 1</b>	3.47±0.23	5.68±0.92	0.64±0.05	85.99±3.24	2.23±0.08
	<b>Moda 2</b>	15.00±0.00	19.45±1.39	1.67±0.08		
	<b>Moda 3</b>	88.33±2.89	61.40±2.00	5.93±0.21		
<b>F1</b>	<b>Moda 1</b>	3.07±0.12	5.36±0.75	0.68±0.07	76.63±2.72	1.87±0.07
	<b>Moda 2</b>	15.00±0.00	20.12±1.80	1.57±0.10		
	<b>Moda 3</b>	100.00±0.0	68.16±1.73	6.66±0.35		
<b>F2</b>	<b>Moda 1</b>	3.20±0.00	4.82±0.13	0.58±0.02	91.54±4.39	2.30±0.10
	<b>Moda 2</b>	15.00±0.00	17.42±0.61	1.51±0.06		
	<b>Moda 3</b>	90.00±0.00	60.51±1.70	5.96±0.05		
<b>H1</b>	<b>Moda 1</b>	3.00±0.00	4.13±0.09	0.54±0.02	106.75±4.23	3.09±0.00
	<b>Moda 2</b>	20.00±0.00	17.25±0.94	1.23±0.12		
	<b>Moda 3</b>	86.67±2.89	55.55±0.19	5.56±0.11		
<b>H2</b>	<b>Moda 1</b>	3.00±0.00	5.41±0.36	0.68±0.05	101.19±3.11	3.07±0.07
	<b>Moda 2</b>	17.00±0.00	19.52±1.01	1.30±0.07		
	<b>Moda 3</b>	90.00±0.00	59.63±1.19	5.48±0.06		
<b>I1</b>	<b>Moda 1</b>	3.00±0.00	4.11±0.25	0.55±0.04	91.50±0.94	2.55±0.04
	<b>Moda 2</b>	17.00±0.00	17.58±0.54	1.41±0.02		
	<b>Moda 3</b>	85.00±0.00	60.72±0.15	5.78±0.06		
<b>I2</b>	<b>Moda 1</b>	3.00±0.00	4.97±0.78	0.65±0.10	67.21±7.06	1.81±0.23
	<b>Moda 2</b>	17.00±0.00	23.42±3.39	1.80±0.21		
	<b>Moda 3</b>	86.67±0.00	65.43±4.09	6.06±0.74		

La Figura 3.8 muestra el histograma del tamaño de partícula de las muestras con menor índice de polidispersidad correspondiente a la muestra control del Cuadro 3.8 B), se distinguen sus modas más fácilmente que las correspondientes al histograma de la Figura 3.9 del experimento H1, cuyo índice de polidispersidad es

el mayor, esto debido a que un índice de polidispersidad mayor indica una dispersión del tamaño de partícula más homogéneo en diámetro cercano a 90  $\mu\text{m}$ .

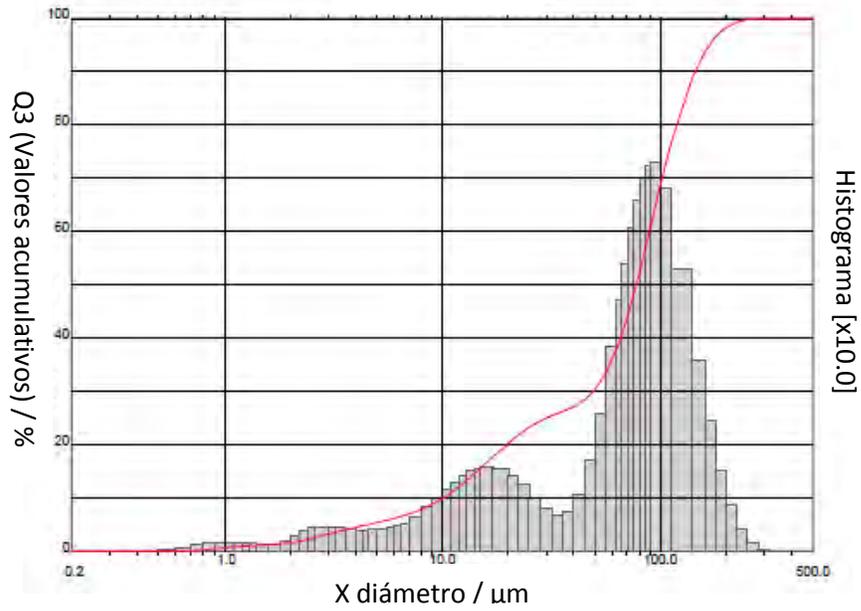


Figura 3.8. Histograma de distribución del tamaño de partícula de la muestra control B.

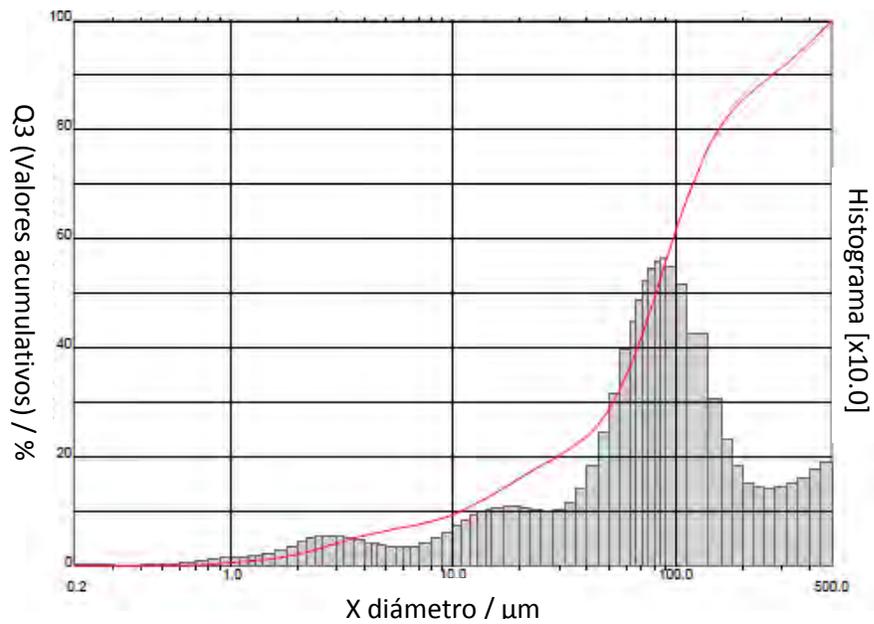


Figura 3.9. Histograma de distribución del tamaño de partícula del experimento H1.

Cuadro 3.9. Análisis de varianza del tamaño medio de partícula como variable de respuesta y tratamientos de microondas (MO), ultrasonido (US) y nivel de dilución (A) como factores.

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Modelo	9	537.14	59.683	0.60	0.763
Lineal	3	88.78	29.594	0.30	0.827
MO	1	27.75	27.751	0.28	0.621
US	1	0.37	0.366	0.00	0.954
A	1	60.67	60.665	0.61	0.471
Cuadrado	3	161.31	53.772	0.54	0.676
MO*MO	1	157.50	157.504	1.58	0.265
US*US	1	0.01	0.007	0.00	0.994
A*A	1	0.69	0.687	0.01	0.937
Interacción de 2 factores	3	287.05	95.683	0.96	0.480
MO*US	1	123.21	123.210	1.23	0.317
MO*A	1	154.50	154.505	1.55	0.269
US*A	1	9.33	9.333	0.09	0.772
Error	5	498.98	99.797		
Falta de ajuste	3	498.98	166.328	*	*
Error puro	2	0.00	0.000		
Total	14	1036.13			

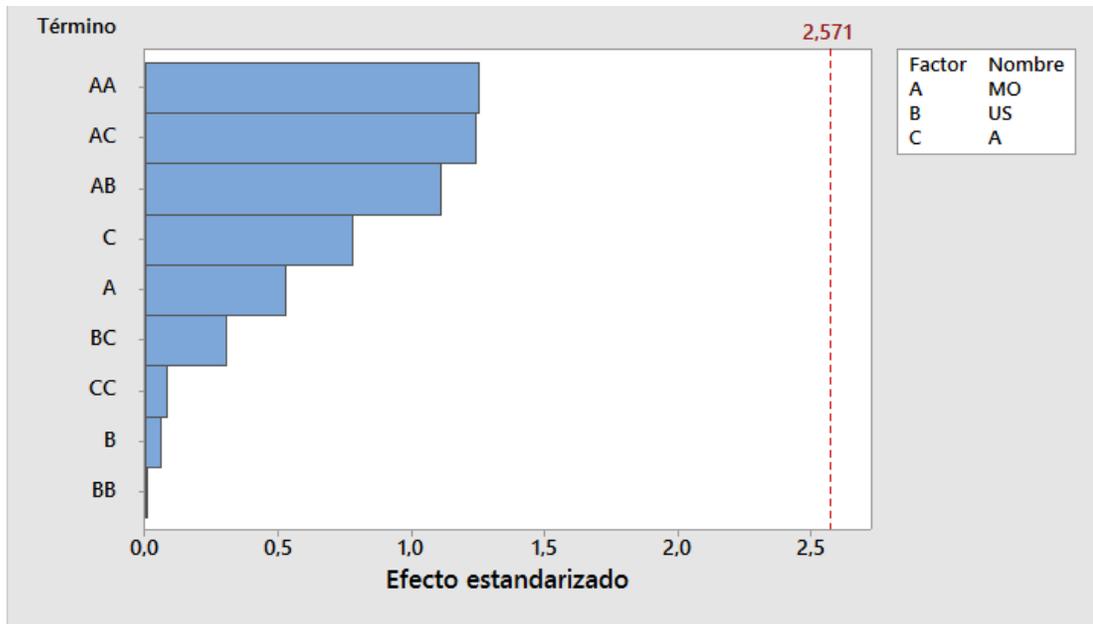


Figura 3.10. Diagrama de Pareto de efectos estandarizados para tamaño medio de partícula.

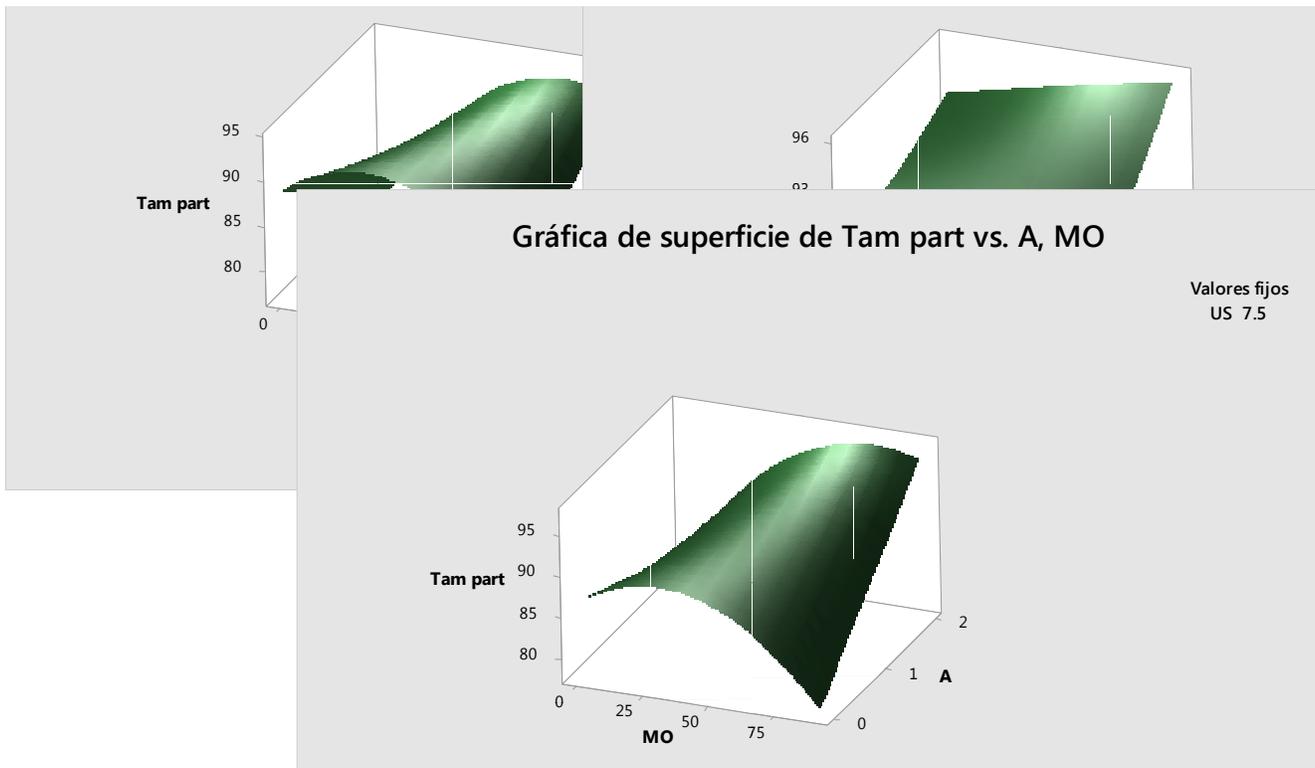


Figura 3.11. Superficie de respuesta del tamaño medio de partícula en función de los tratamientos de microondas (MO), ultrasonido (US) y dilución (A).

El índice de polidispersión ( $s$ ) fue calculado para todos los experimentos, reduciéndose en los experimentos A1, B2, C1, D1, D2, G1 con respecto de la muestra control, en los cuales se aplicó ultrasonido en niveles bajos y en un caso en el nivel alto pero combinado con microondas en nivel bajo, confirmado por la superficie de respuesta de la Figura 3.12. En todos los demás experimentos, el índice de polidispersión aumentó. La tendencia de la polidispersión a aumentar, confirma lo dicho con respecto al diámetro medio, dónde se afirmó la homogeneización de tamaños de partícula pequeños y por consiguiente el aumento en la densidad de distribución en partículas de diámetros mayores (cerca de  $90 \mu\text{m}$ ). Los valores de  $s$  se encuentran entre 1.63 y 3.09, valores mayores a 1, indicando que todas las muestras se encuentran dispersas en tamaños de partícula grandes.

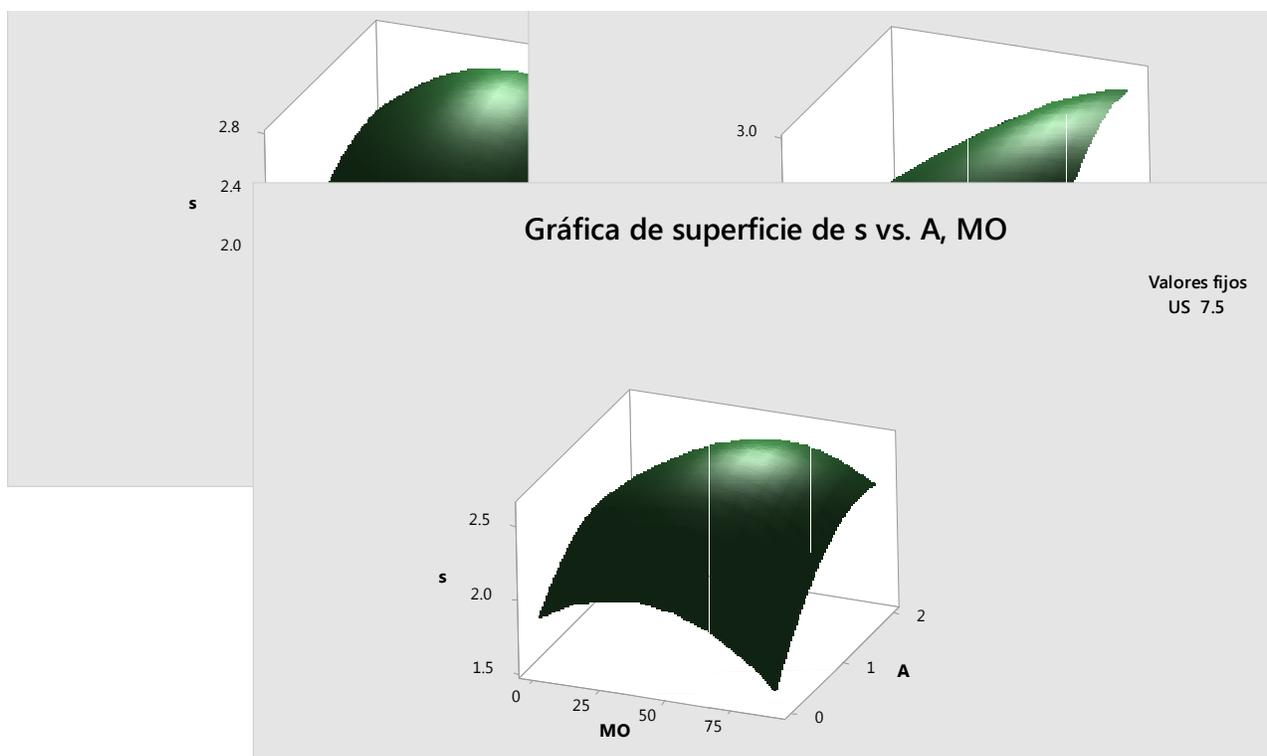


Figura 3.12. Superficie de respuesta de índice de polidispersión ( $s$ ) en función de tratamientos de microondas (MO), ultrasonido (US) y nivel de dilución (A).

El tiempo de tratamiento con ultrasonido y la adición de agua tuvieron efecto significativo sobre el índice de polidispersión, mientras que MO afectó

significativamente de manera no lineal, A lo hizo lineal y no linealmente y además, existe una interacción entre US y A (Cuadro 3.10) que puede ser explicada nuevamente debido al fenómeno de la cavitación. La Figura 3.13 confirma gráficamente los efectos significativos.

Cuadro 3.10. Análisis de varianza del índice de polidispersión (s) como variable de respuesta y tratamientos de microondas (MO), ultrasonido (US) y nivel de dilución (A) como factores.

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Modelo	9	2.13086	0.236762	5.80	0.034
Lineal	3	1.14543	0.381808	9.35	0.017
MO	1	0.00080	0.000800	0.02	0.894
US	1	0.72601	0.726013	17.79	0.008
A	1	0.41861	0.418613	10.26	0.024
Cuadrado	3	0.66098	0.220328	5.40	0.050
MO*MO	1	0.38402	0.384023	9.41	0.028
US*US	1	0.11963	0.119631	2.93	0.148
A*A	1	0.24960	0.249600	6.12	0.056
Interacción de 2 factores	3	0.32445	0.108150	2.65	0.160
MO*US	1	0.00422	0.004225	0.10	0.761
MO*A	1	0.07022	0.070225	1.72	0.247
US*A	1	0.25000	0.250000	6.13	0.056
Error	5	0.20407	0.040815		
Falta de ajuste	3	0.20407	0.068025	*	*
Error puro	2	0.00000	0.000000		
Total	14	2.33493			

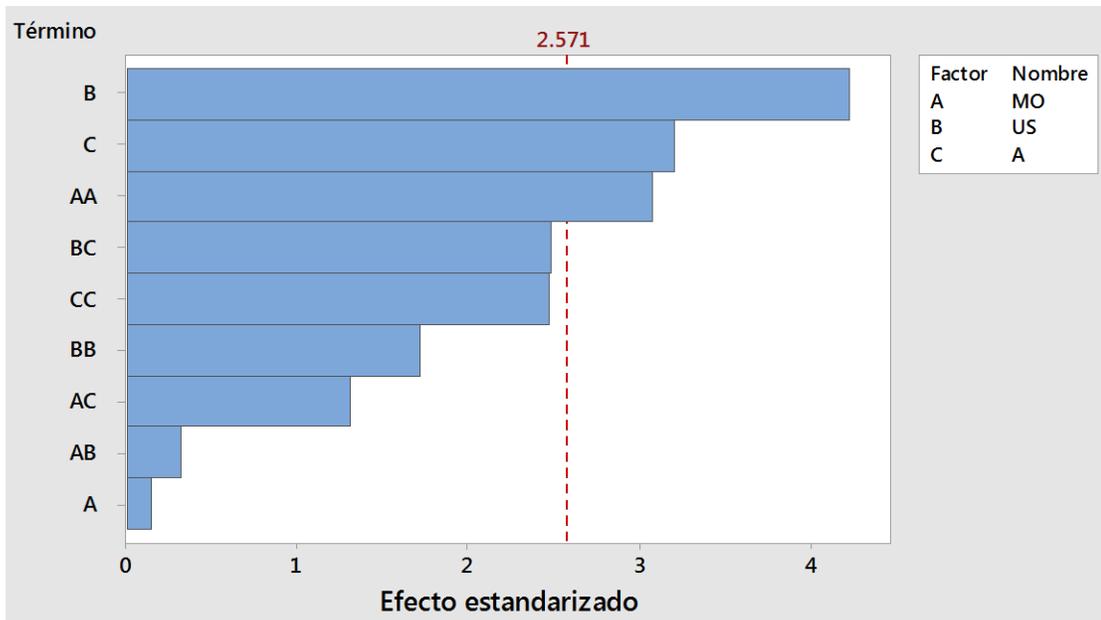


Figura 3.13. Diagrama de Pareto de efectos estandarizados para el índice de polidispersión (s).

### 3.4 Efecto de los tratamientos aplicados en el rendimiento de aceite

En el Cuadro 3.11 se resumen los resultados obtenidos de la variable a optimizar RA (%).

Las muestras sin tratamiento y las tratadas únicamente con ultrasonido no presentaron separación de aceite, tampoco lo presentaron las muestras tratadas con ultrasonido en su nivel de variación alto. Lo anterior es debido a la baja frecuencia del procesador ultrasónico, que se utiliza mayormente para favorecer la emulsificación, dado su régimen de cavitación.

Cuadro 3.11. Rendimiento de extracción de aceite (RA) de cada corrida, con su respectivo lote.

<b>Lote (DDMMAAAA)</b>	<b>Corrida</b>	<b>RA (%)</b>
<b>21112017</b>	<b>A1</b>	6.18
<b>21112017</b>	<b>A2</b>	0
<b>21112017</b>	<b>B1</b>	0
<b>21112017</b>	<b>B2</b>	16.62
<b>21112017</b>	<b>C1</b>	7.71
<b>21112017</b>	<b>C2</b>	0
<b>13112017</b>	<b>D1</b>	0
<b>13112017</b>	<b>D2</b>	6.41
<b>13112017</b>	<b>E1</b>	0
<b>13112017</b>	<b>E2</b>	0
<b>13112017</b>	<b>F1</b>	0
<b>13112017</b>	<b>F2</b>	0
<b>14112017</b>	<b>G1</b>	7.09
<b>22112017</b>	<b>G2</b>	0
<b>01122017</b>	<b>H1</b>	0
<b>01122017</b>	<b>H2</b>	0
<b>01122017</b>	<b>I1</b>	3.09
<b>01122017</b>	<b>I2</b>	0

La Figura 3.14 muestra que tanto el efecto de ultrasonido como el nivel de dilución antes de los tratamientos reducen el rendimiento de extracción de aceite. El ultrasonido a bajas frecuencias es utilizado para extracción de bioactivos pero también para mejorar la emulsificación, lo cual depende de las condiciones del proceso, en primer lugar el ultrasonido promueve el rompimiento de células y la liberación de aceite pero conforme aumenta el tiempo de ultrasonificación, el aceite es emulsificado al ser reducido su tamaño de glóbulo por efecto también de la cavitación. Por otro lado, las microondas logran un calentamiento y formación de vapor en el interior de las células que provoca que la presión interna sea alta, hasta lograr romper las paredes celulares, probablemente la adición de agua (que permanece principalmente en el exterior de las células) logra contrarrestar la presión reduciendo el rompimiento de las células y por lo tanto reduciendo el rendimiento de extracción de aceite.

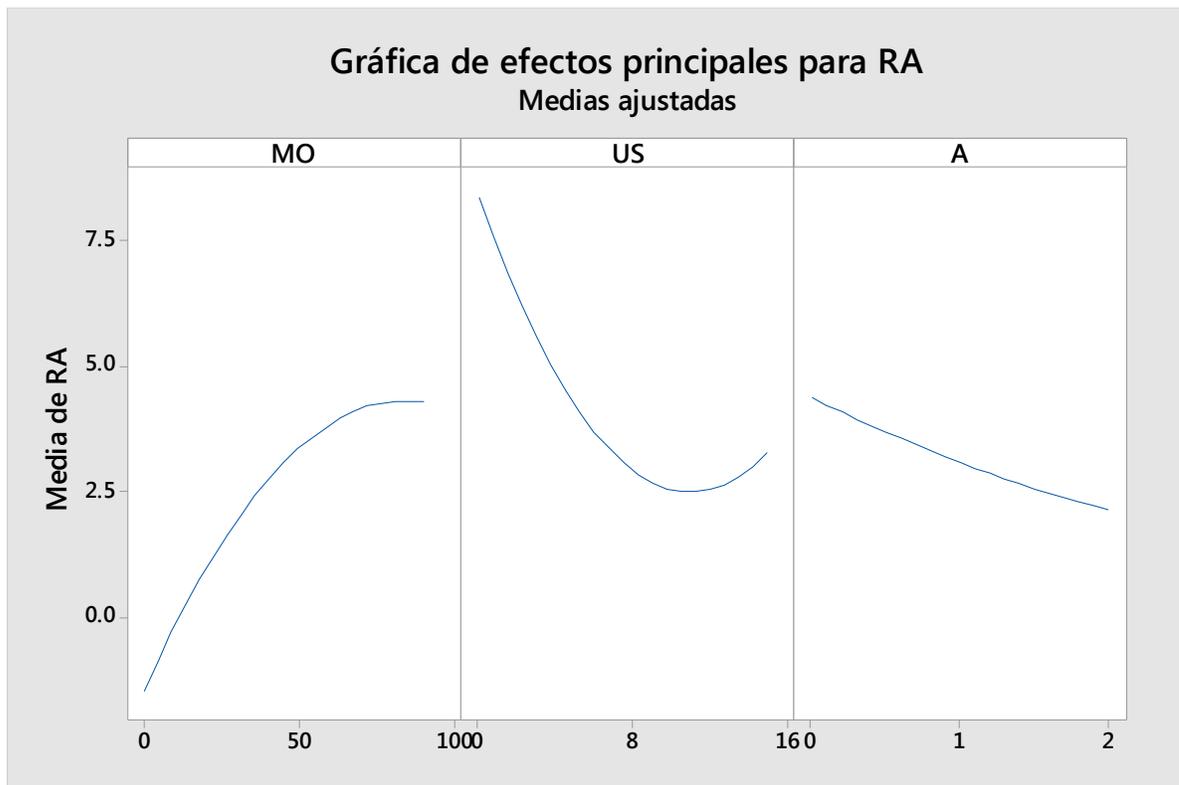


Figura 3.14. Efectos principales para rendimiento de aceite (RA).

Por otro lado, al combinar el tratamiento de ultrasonido con un nivel de dilución alta, se aumenta la cavitación producida en la muestra puesto que las burbujas de cavitación se forman de vapor de agua y dicha cavitación reduce el tamaño de los glóbulos del aceite liberado de las células (Vinatoru *et al.*, 2017), aumentando la estabilidad de la emulsión formada y reduciendo el rendimiento obtenido después de la centrifugación. Es decir, la adición de agua al puré resulta contraproducente cuando se combina con el tratamiento de ultrasonido y/o microondas, a pesar de que se podría esperar un aumento del rendimiento de extracción de aceite ya que la adición de agua reduce la viscosidad compleja del puré, lo que facilita la difusión del aceite en el medio, favoreciendo la separación de fases.

La Figura 3.15 muestra que existe interacción de las tres variables, validando la hipótesis del análisis anterior. Donde al combinar las variables, estas reducen el rendimiento de aceite comparado con únicamente utilizar microondas y donde el tiempo de tratamiento con microondas tiende a aumentar la extractabilidad de aceite, aunque los demás factores actúen de manera antagónica.

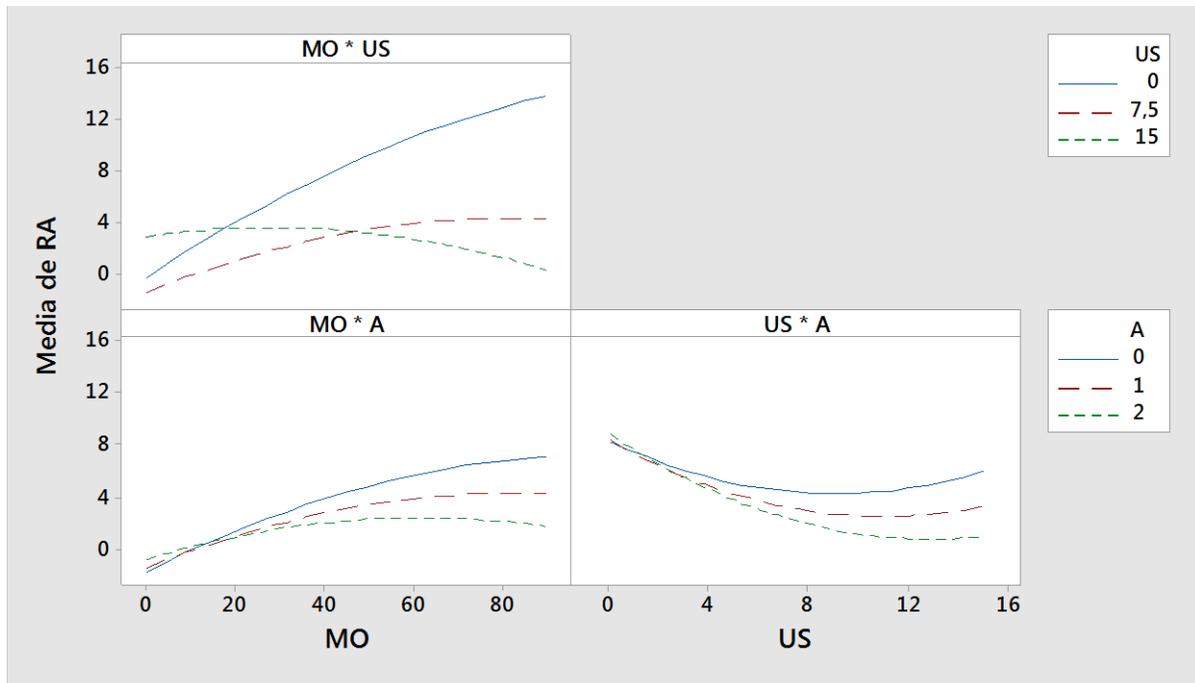


Figura 3.15. Interacción para rendimiento de aceite (RA).

La Figura 3.16 muestra que la combinación de ultrasonido con microondas tuvo el mayor efecto sobre RA, seguido de MO, seguido de US, los demás factores (nivel de dilución del puré y combinaciones restantes) no presentaron efectos significativos. El Cuadro 3.13 muestra los valores de  $p$  de cada factor, de donde se basa para confirmar que únicamente MO, US y su interacción tienen efecto significativo sobre RA. Aunque la combinación de ambos tratamientos tiene el mayor efecto (Figura 3.16), no fueron los que resultaron en el mayor rendimiento, como ya se explicó antes (la interacción entre los factores fue antagónica). Por lo que la mejor opción para extraer aceite es únicamente por irradiación con microondas.

Cuadro 3.12. Análisis de varianza de rendimiento de aceite (RA) como variable de respuesta en función de tratamientos con microondas (MO), ultrasonido (US) y nivel de dilución (A) como factores.

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Modelo	9	255.767	28.4185	3.97	0.072
Lineal	3	127.818	42.6060	5.95	0.042
MO	1	66.298	66.2976	9.26	0.029
US	1	51.664	51.6636	7.21	0.044
A	1	9.857	9.8568	1.38	0.294
Cuadrado	3	40.975	13.6584	1.91	0.246
MO*MO	1	10.359	10.3592	1.45	0.283
US*US	1	27.720	27.7204	3.87	0.106
A*A	1	0.130	0.1298	0.02	0.898
Interacción de 2 factores	3	86.973	28.9911	4.05	0.083
MO*US	1	69.056	69.0561	9.64	0.027
MO*A	1	10.272	10.2720	1.43	0.285
US*A	1	7.645	7.6452	1.07	0.349
Error	5	35.804	7.1609		
Falta de ajuste	3	35.804	11.9348	*	*
Error puro	2	0.000	0.0000		
Total	14	291.571			

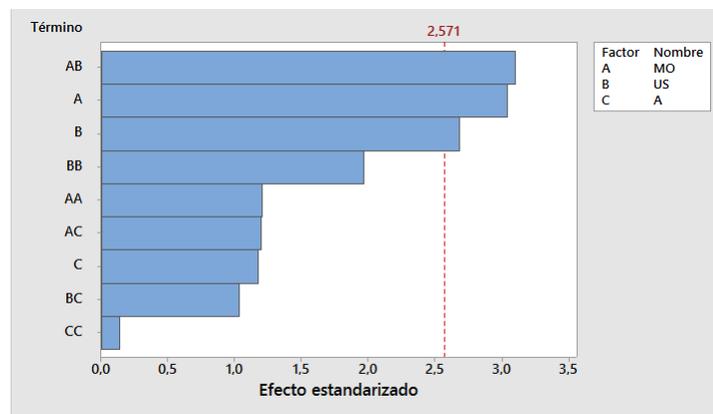


Figura 3.16. Diagrama de Pareto de efectos estandarizados para rendimiento de aceite (RA).

El modelo resultante, de los factores con efecto significativo es:

$$RA = 0.2664 MO - 0.331 US - (0.01231 MO \times US) \quad (45)$$

Cuyo coeficiente de determinación ( $R^2$ ) fue de 0.87. La ecuación refleja el efecto que tiene cada factor significativo sobre el rendimiento de extracción de aceite, ya que el factor MO incrementa a RA mientras que US y  $MO \times US$  lo reducen (se restan en la ecuación). Concluyendo que el ultrasonido utilizado en el presente trabajo reduce la extractabilidad de aceite incluso en combinación con MO.

Cabe mencionar que el rendimiento de aceite es mayor en puré de aguacate con mayor contenido de humedad, el cual tiene menor grado de madurez (sin dejar de considerarse aguacate maduro), ya que el aguacate no ha tenido la necesidad de utilizar el aceite como fuente de energía para llevar a cabo sus procesos metabólicos, valiéndose de los carbohidratos que contiene (FAO, 1987).

La Figura 3.17 muestra gráficamente el efecto de los tres factores sobre RA y la Figura 3.18 muestra el pico del máximo rendimiento de aceite, es decir, el valor óptimo, que como es esperado consta de únicamente el factor MO, es decir, se obtiene al tratar únicamente con microondas en un nivel alto, mientras que la gráfica de contorno mostrada en la Figura 3.19, confirma el alto rendimiento obtenido al utilizar MO.

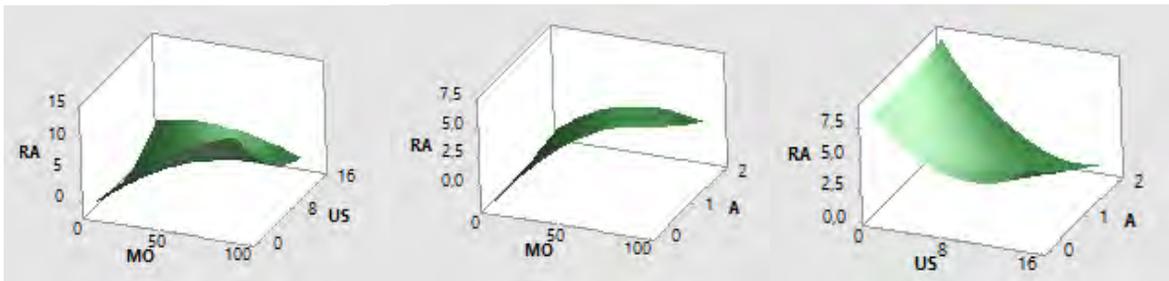


Figura 3.17. Superficie de rendimiento de aceite (RA) con respecto a los tratamientos de microondas (MO), ultrasonido (US) y nivel de dilución (A).

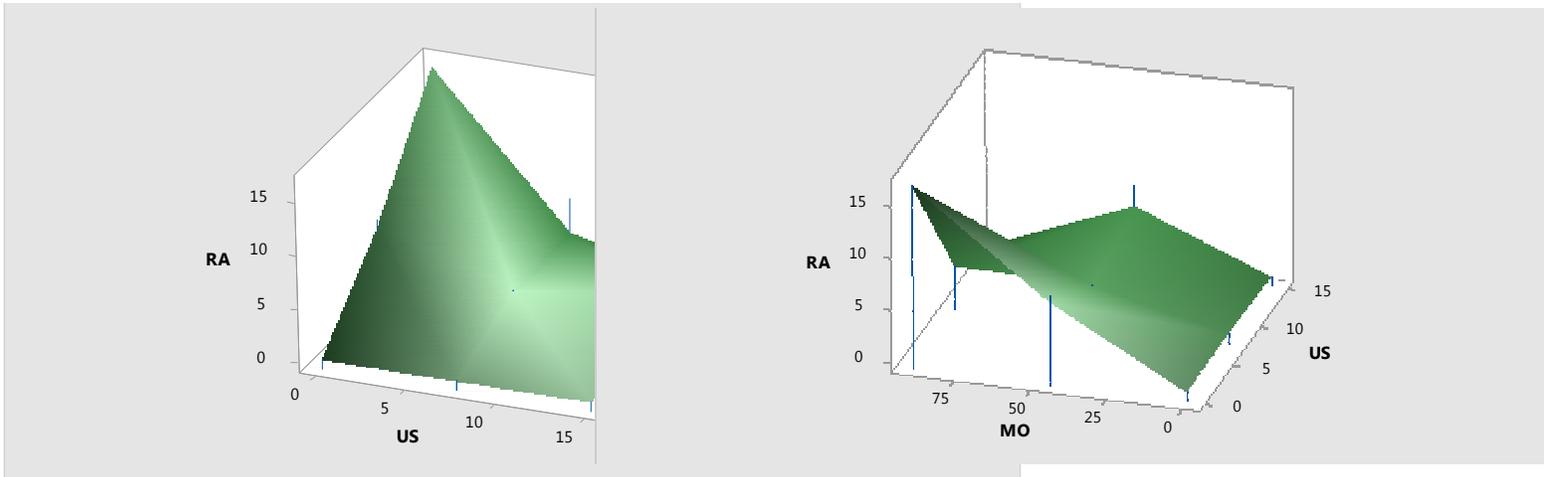


Figura 3.18. Superficie vista desde dos ángulos con rendimiento de aceite (RA) como variable de respuesta en función de tratamientos con microondas (MO) y ultrasonido (US).

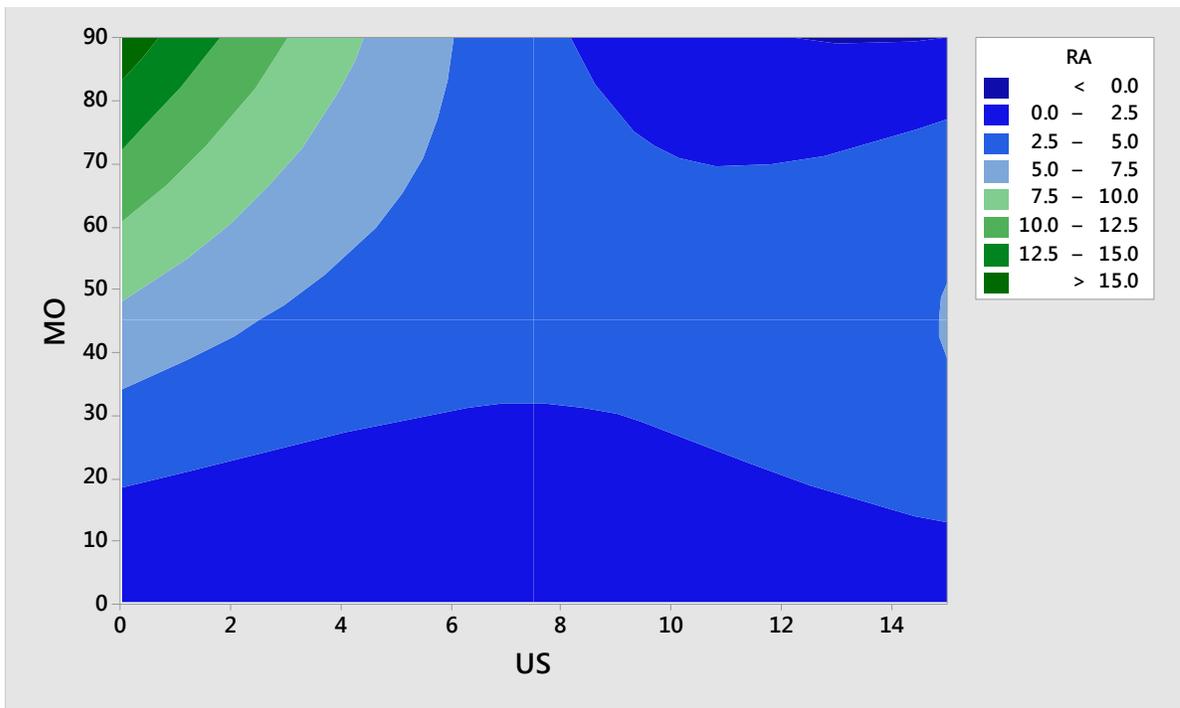


Figura 3.19. Contorno de rendimiento de aceite (RA) en función de tratamientos con microondas (MO) y ultrasonido (US).

La Figura 3.20 muestra las superficies obtenidas de la combinación de ambos tratamientos con el nivel de dilución, con RA como respuesta. Del lado izquierdo

se observa un RA alto con MO alto y A bajo, mientras que del lado derecho se observa RA alto con el nivel de US alto y A bajo.

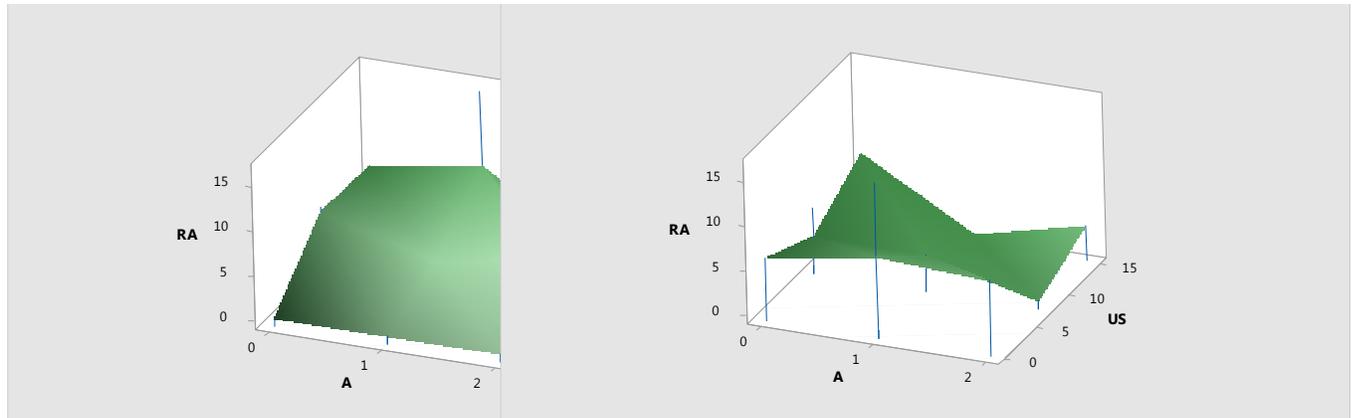


Figura 3.20. Superficie de rendimiento de aceite (RA) como variables de respuesta en función de tratamiento con microondas (MO), nivel de dilución (A) y tratamiento con ultrasonido (US), nivel de dilución (A).

### 3.5 Efecto de la viscosidad compleja en la extracción de aceite

Al realizar el análisis de varianza de la viscosidad compleja del puré de aguacate como factor del rendimiento de aceite como respuesta, se obtuvo una  $p > 0.05$ , lo que significa que no hay diferencias significativas (Cuadro 3.13) lo cual puede ser confirmado gráficamente en la Figura 3.21. La reología no tuvo efecto sobre el rendimiento de aceite bajo las condiciones estudiadas en el presente proyecto y que a pesar de haber obtenido un coeficiente de variación alto (mayor a 10%), la viscosidad compleja si se puede utilizar satisfactoriamente como parámetro de calidad para la adecuada selección de aguacates, de manera que se atribuyen las diferencias en RA exclusivamente a los factores MO y US.

Cuadro 3.13. Análisis de varianza de la viscosidad compleja ( $\eta^*$ ) como factor y rendimiento de aceite (RA) como variable de respuesta.

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Viscosidad	3	116.2	38.73	2.43	0.120
Error	11	175.4	15.94		
Total	14	291.6			

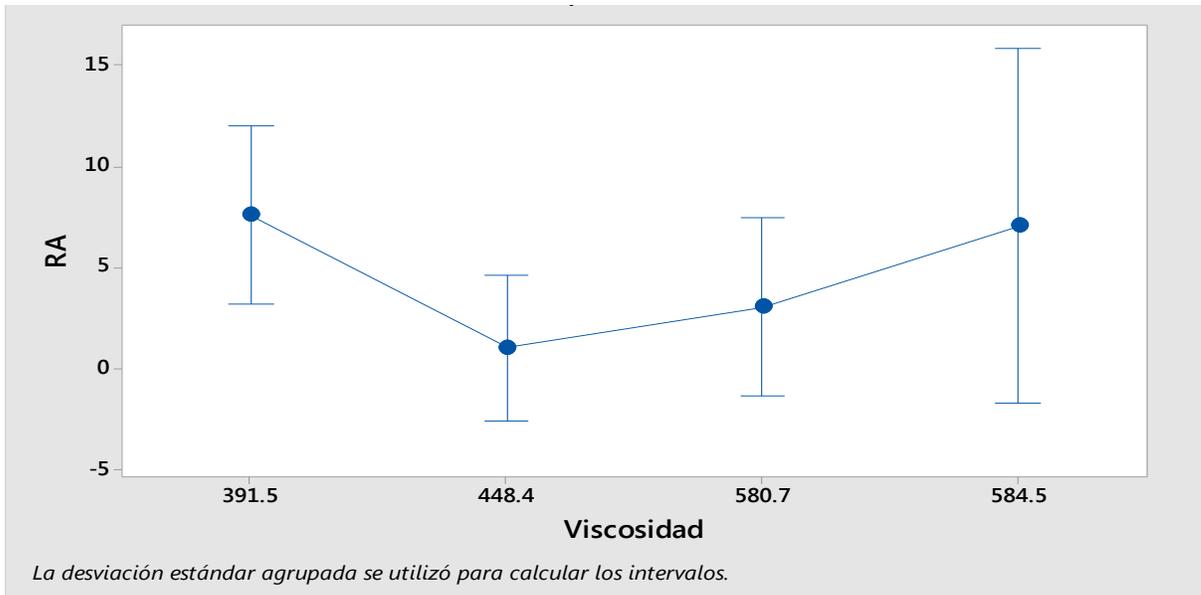


Figura 3.21. Intervalos de rendimiento de aceite (RA) en función de Viscosidad compleja ( $\eta^*$ ).

### 3.6 Optimización del rendimiento de aceite

La optimización del rendimiento de aceite resultante mostró el punto máximo de rendimiento utilizando el nivel alto de MO (90 s) y los nulos de US (0 min) y A (sin dilución), proponiendo un valor objetivo del 17%, el cual es la cantidad promedio de aceite que contiene el aguacate Hass (Figura 3.22).

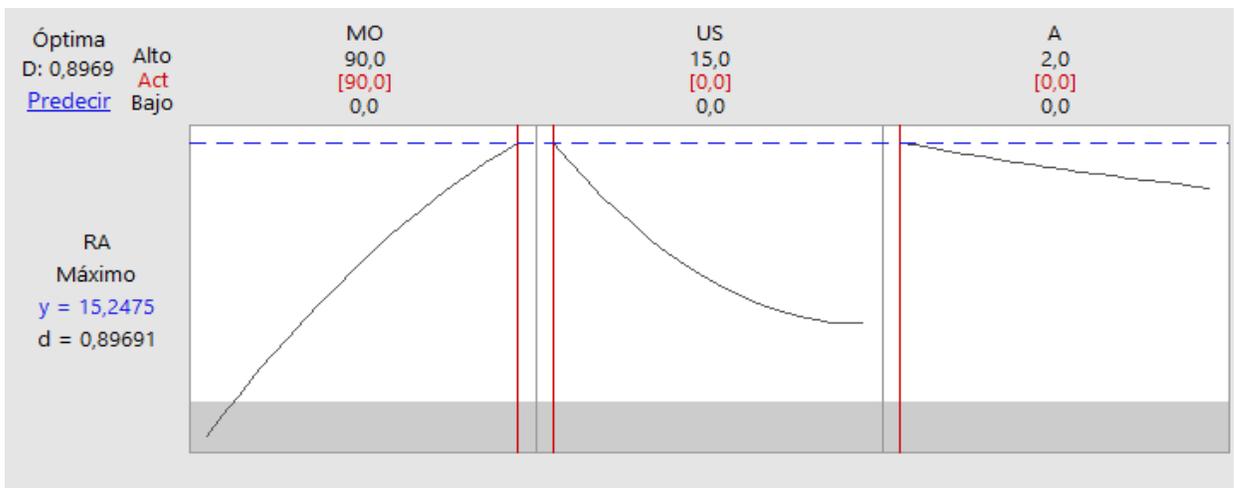


Figura 3.22. Optimización de rendimiento de aceite (RA) por medio del diseño de superficie de respuesta para un valor objetivo de rendimiento de aceite del 17%.

El valor más alto obtenible es de 15.24% con el nivel alto de tratamiento con microondas, sin tratamiento de ultrasonido y sin dilución. La Ecuación 45, que muestra los factores con efecto significativo confirma esta respuesta, ya que el tratamiento ultrasónico, solo o en combinación con microondas, sólo redujo el rendimiento de aceite obtenido.

### 3.7 Propiedades del aceite obtenido bajo condiciones óptimas

#### 3.7.1 Parámetros de calidad y rendimiento de aceite

De acuerdo al objetivo particular 4 se extrajo aceite de aguacate bajo las condiciones óptimas resultantes del método de superficie de respuesta y se comparó con la extracción por método Soxhlet y con la realizada con hexano por Martínez-Padilla *et al.* (2018), utilizando como control de calidad el valor de humedad y de rendimiento de pulpa, resumido en el siguiente cuadro.

Cuadro 3.14. Humedad (%), rendimiento de pulpa (%) y rendimiento de aceite (RA) (%) de tres métodos de extracción en base húmeda; MO (90 s) es el óptimo obtenido con tratamiento de microondas, Soxhlet es el obtenido por extracción con hexano por el método oficial 920.39 de la AOAC y el tercero el utilizado por Martínez-Padilla *et al.* (2018) utilizando hexano.

	MO (90 s)	Soxhlet	Martínez-Padilla <i>et al.</i> (2018)	Martínez-Padilla <i>et al.</i> (2017)
<b>Humedad (%)</b>	70.60±0.36	70.77±0.16	69.0±5.6	-
<b>Rendimiento de pulpa (%)</b>	71.69	71.69	69.5±1.6	-
<b>G' (Pa)</b>	2929.00±18.32		-	2759±250*
<b>G'' (Pa)</b>	591.05±3.87		-	358±61*
<b>η* (Pa s)</b>	298.65±1.73		-	344±35
<b>RA (%)</b>	13.58±0.72	17.36±0.37	11.4±4.8	-

\*Valores reportados a 1 rad/s.

En primer lugar se encuentra la humedad, que de acuerdo a Osuna-García *et al.* (2016), los aguacates utilizados cumplen con la madurez deseada en los tres casos, posteriormente está el rendimiento de pulpa el cual es cerca del 70%, cuya variación fue de 1.78%, por lo que los resultados de RA (%) son comparables al

tener parámetros de calidad muy similares. El mayor rendimiento se obtuvo por medio del método Soxhlet y el menor fue obtenido por Martínez-Padilla *et al.* (2018), a pesar de que ambos fueron realizados con hexano, el método Soxhlet requiere de muestra seca lo que evita la interferencia del agua al paso del hexano hacia el interior de las células, aumentando el rendimiento de extracción. Sin embargo, el rendimiento de aceite obtenido con la combinación óptima de factores fue muy cercana al predicho por el análisis estadístico, con un coeficiente de variación de 8.14% entre ellos, lo que representa una diferencia de 1.66% de aceite. A continuación, se presenta una tabla con el rendimiento neto de aceite obtenido en cada corrida experimental, incluida la óptima.

Cuadro 3.15. Rendimientos RA (%) y RN (%) de corridas experimentales y de la combinación óptima teórica y experimental (combinación óptima).

<b>Lote (DDMMAAAA)</b>	<b>Corrida</b>	<b>RA (%)</b>	<b>RN (%)</b>
21112017	A1	6.18	35.60
21112017	A2	0	0.00
21112017	B1	0	0.00
21112017	B2	16.62	95.74
21112017	C1	7.71	44.41
21112017	C2	0	0.00
13112017	D1	0	0.00
13112017	D2	6.41	36.92
13112017	E1	0	0.00
13112017	E2	0	0.00
13112017	F1	0	0.00
13112017	F2	0	0.00
14112017	G1	7.09	40.84
22112017	G2	0	0.00
01122017	H1	0	0.00
01122017	H2	0	0.00
01122017	I1	3.09	17.80
01122017	I2	0	0.00
22012017	<b>Combinación óptima</b>	13.58	78.23
<b>Óptima teórica</b>		15.24	87.79

La combinación óptima experimental logró alcanzar poco más del 78% del rendimiento neto de extracción, lo que significa que el puré resultante aun contiene cerca de 3.42% de aceite (con respecto al puré), cantidad aún importante que podría ser recuperada implementando un proceso de extracción posterior. Este último porcentaje es válido cuando se concluye que el aguacate contiene 17% de aceite extraíble, pues Martínez-Padilla *et al.* (2018) lograron extraer con hexano únicamente 11.4% de aceite, que si fuera tomado como referencia, el RN (%) del presente proyecto aumentaría de manera importante, sin embargo como ya se comentó, este resultado fue bajo debido a la extracción que se realizó sobre la muestra húmeda, sabiendo que el agua constituye un impedimento al paso del hexano (ya que son inmiscibles) a través de las células, lo que dificulta la extracción (AOAC, 2000). Esta condición es una ventaja del uso de microondas y ultrasonido para la extracción de aceite, ya que no es necesario secar las muestras, ahorrando recursos en el proceso de extracción de aceite, obteniendo un mejor rendimiento (más de 2%) que con hexano en muestras húmedas y la diferencia encontrada con respecto a la extracción con hexano en muestras secas, puede ser eliminada con algún proceso que también aventaje los métodos tradicionales, como la implementación de ultrasonido de alta frecuencia.

### **3.7.2 Viscosidad del aceite**

El aceite obtenido bajo las condiciones óptimas de los factores estudiados en el presente proyecto, fue evaluado bajo distintas pruebas, según el objetivo particular 5. Inicialmente se presenta la curva de flujo del aceite de aguacate (Figura 3.23).

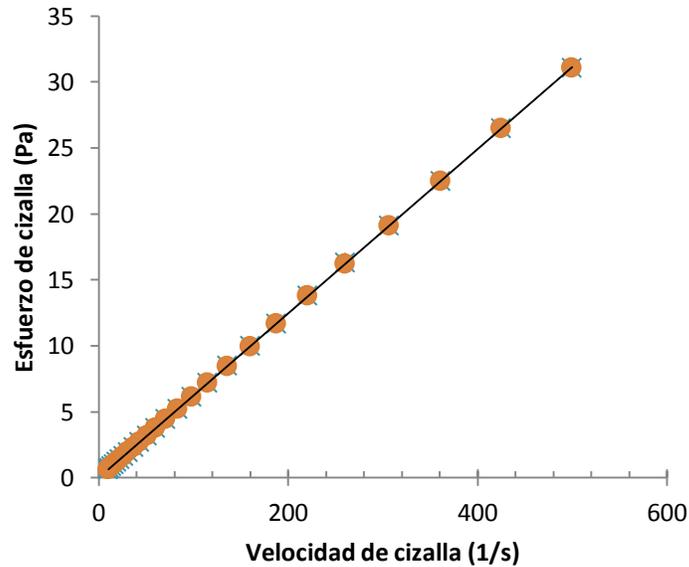


Figura 3.23. Curva de flujo de ascenso y descenso de velocidad de cizalla, de aceite de aguacate evaluada a 25 °C.

La curva se ajustó al modelo de un fluido newtoniano, cuya  $R^2$  fue 1. Se obtiene una viscosidad del aceite de 62.3 mPa s, @ 25 °C, mientras que Martínez-Padilla *et al.* (2018) obtuvieron una viscosidad promedio de 60.23 mPa s, en aceite extraído por la combinación de malaxado y ultrasonido. La viscosidad de ambos aceites fue muy cercana, con aproximadamente 3% de diferencia y ambas más de 60 veces mayor a la viscosidad del agua evaluada a la misma temperatura.

Por otro lado Tamara de Souza *et al.* (2015) reportan que la viscosidad de aceite extraído por medio de malaxado y centrifugación es de 69.03 mPa s, mientras que la viscosidad de un aceite comercial extraído a través de prensado en frío fue de 68.46 mPa s. Mientras que el extraído por Schwartz *et al.* (2007) presentó una viscosidad de 43 mPa s, en aceite extraído por prensado previo tratamiento enzimático. Lo que significa que el método de extracción influye de manera importante en la viscosidad del aceite obtenido, ya que la composición del aceite varía con el método de extracción utilizado (Qin y Zhong, 2016).

### 3.7.3 Análisis químico del aceite

En cuanto a los parámetros químicos, en el Cuadro 3.16 se resumen y comparan los resultados obtenidos.

Cuadro 3.16. Parámetros químicos del aceite de aguacate (AA) extraído bajo diferentes condiciones, microondas (MO), por hexano (HX) y comparación bibliográfica.

	AA MO	AA HX	Martínez-Padilla <i>et al.</i> , 2018	Jiménez <i>et al.</i> , 2001	Jiménez <i>et al.</i> , 2001 (comercial)	NMX-F-052-SCFI-2008		CODEX STAN 210-1999
						Mín.	Máx.	
Índice de yodo (gI <sub>2</sub> /100 g)	85.2	83.7	-	87.53	83.35	85	90	-
Índice de peróxidos (mEqO <sub>2</sub> /kg)	5.28	9.15	12.2	*	*	-	10	15
Índice de acidez (mg KOH/g)	2.19	1.46	-	1.88	2.98	-	-	4
Polifenoles totales (mg/100 g)	8.79	8.43	2.3	-	-	-	-	-

\*Valores omitidos por incongruencia en los datos.

El aceite de aguacate AA MO se refiere al extraído bajo las condiciones óptimas resultantes del análisis de superficie de respuesta del presente proyecto, el aceite AA HX fue el obtenido por extracción con hexano por el método descrito por Martínez-Padilla *et al.* (2018), mientras que el aceite extraído por Martínez-Padilla *et al.* (2018) fue el extraído con ultrasonido de 2 MHz de frecuencia, el referido como Jiménez *et al.* (2001) se refiere al extraído por dichos autores, utilizando hexano previa deshidratación por microondas, también se presenta una comparación con aceites comerciales referenciados por Jiménez *et al.* (2001) y finalmente valores de referencia encontrados en la NMX-F-052-SCFI-2008 para aceite de aguacate comestible y CODEX STAN 210-1999 para aceites vírgenes comestibles (el cual muestra únicamente el límite máximo permitido).

Se puede observar que el aceite AA MO extraído en este proyecto, cumple con todos los límites de calidad encontrados, mientras que AA HX no cumple con el índice de yodo, por otro lado el referenciado como Martínez-Padilla *et al.*

(2018) presenta un índice de peróxidos aceptable en el CODEX STAN 210-1999 y el extraído por Jiménez *et al.* (2001) cumple con el índice de acidez y con el índice de yodo, mientras que el comercial presenta un índice de yodo menor al requerido según la NMX-F-052-SCFI-2008. Los resultados de índice de peróxidos, marcados con asterisco fueron omitidos ya que presentaban valores exageradamente altos, mientras que los autores afirmaban cumplir con la normatividad.

El aceite de aguacate AA MO presenta la mejor calidad de todos los aceites presentados en el Cuadro 3.16, ya que tiene el mayor contenido de polifenoles (al tener mayor contenido que el aceite extraído por ultrasonido de alta frecuencia, implica mayor rompimiento celular y mayor liberación de los compuestos fenólicos), el menor contenido de peróxidos y cumple con el índice yodo establecido y únicamente el índice de acidez es más elevado que para el aceite AA HX y Jiménez *et al.* (2001), pero aún cumple con la normatividad mexicana. Por lo tanto no únicamente es conveniente utilizar microondas en los niveles establecidos anteriormente, para lograr un alto rendimiento de extracción de aceite, sino que también lo es para obtener aceite de buena calidad.

El índice de peróxidos es mayor en el aceite extraído con ultrasonido de 2 MHz por Martínez-Padilla *et al.* (2018) que en el extraído por microondas en este estudio, debido al rompimiento homolítico de las moléculas de agua, que promueve la cavitación ultrasónica. Con respecto al aceite comercial referenciado, el aceite extraído por MO tiene menor índice de peróxidos y de acidez, aunque su índice de acidez es mayor al de aceite extraído por ultrasonido de 2 MHz e incluso mayor al extraído con hexano sigue siendo menor al comercial reportado, por lo que es más resistente a la oxidación. Que el índice de acidez sea mayor en el aceite extraído por microondas se atribuye a la lipólisis de los triglicéridos que se efectúa por la alta temperatura en presencia de agua (Badui, 2012), mientras que en la extracción con hexano la

temperatura se elevó para llevar a cabo la destilación pero al ser el hexano muy volátil, la temperatura utilizada en la operación fue de 70 °C, unos grados menos que la temperatura alcanzada en el tratamiento con microondas.

El índice de yodo del aceite extraído por microondas fue mayor al comercial referenciado y cumplió con el intervalo permitido por la NMX-F-052-SCFI-2008, lo que garantiza un grado adecuado de insaturación de aceite, ya que al no sobrepasar el límite superior se asegura que no sea tan susceptible a la oxidación, pues un índice de yodo alto implica un aceite de fácil oxidación (Badui, 2012). El aceite extraído por microondas presentó mejores características que un aceite comercial y cumplió con los valores establecidos en el Cuadro 3.16.

Finalmente para justificar mejor las ventajas que presentó el tratamiento óptimo del presente proyecto, se puede comparar el método de extracción de aceite con microondas con el método de extracción con hexano considerando que se contaban con los mismos recursos para trabajar en el laboratorio. En primer lugar el tiempo de proceso del microondas es mucho menor, la combinación óptima fue tratada en tres intervalos de 30 s (con enfriamiento rápido entre cada intervalo), por cada 100 g de puré y posteriormente centrifugada por 30 min, por lo que la extracción de 13 g de aceite tomaba alrededor de 50 minutos. Mientras que al extraer la muestra con hexano era necesario en primer lugar el secado de la pulpa de aguacate para obtener un alto rendimiento, posterior destilación en aparato Soxhlet y finalmente puesta a peso constante en horno de convección, proceso que tomaba alrededor de 20 horas y que para obtener los mismos 13 g de aceite era necesario secar alrededor de 76 g de muestra, que una vez seca era necesario hacer la extracción Soxhlet con aproximadamente 3 aparatos Soxhlet, dado el tamaño de muestra que se puede colocar en cada uno. Por otro lado la extracción con hexano utilizando el método descrito por Martínez-Padilla *et al.* (2018), producía un rendimiento (~11.7%) menor al obtenido por microondas, con un tiempo de proceso mayor, debido a que aunque la muestra no tenía que ser

secada, si tenía que dejarse en agitación con hexano y agua caliente por 30 minutos, antes de ser centrifugada por 30 minutos, decantada, destilada por aproximadamente 2 horas y puesta a peso constante en intervalos de 30 minutos en estufa de convección, proceso que tomaba aproximadamente 4 horas, para poder extraer el aceite de 33.3 gramos de pulpa, que eran aproximadamente 3.9 g de aceite.

## CONCLUSIONES

Los parámetros de calidad de la materia prima como el contenido de humedad, la reología y el rendimiento de la pulpa de aguacate, garantizan una adecuada selección del fruto para su uso en el proceso de extracción.

El tiempo de tratamiento con ultrasonido y el tiempo de tratamiento con microondas no afectaron significativamente al tamaño de partícula, ni al  $\Delta$ pH. El pH inicial si afectó la extractabilidad del aceite, quedando abierta la investigación para futuros proyectos que busquen la relación entre purés de aguacate con distintos valores de pH y la estabilidad de las emulsiones formadas entre el agua del medio, el aceite y las proteínas del fruto.

El tratamiento con ultrasonido de 24 kHz aplicado en el puré de aguacate no provocó la separación de aceite, mientras que el tratamiento de microondas si lo logró, aumentando RA cuando la dilución fue nula. Además la calidad del aceite obtenido por microondas cumplió con los parámetros establecidos en el Cuadro 3.16 y fue mejor que la de otros aceites con los cuales se comparó.

La aplicación de tecnologías emergentes en la extracción de aceite de aguacate resultó ventajoso, además de que en el proceso efficientó recursos, el producto presentó mejores características químicas y similares características reológicas con relación a los aceites a los que fue comparado. Otra ventaja de la extracción con microondas sobre la tradicional con el uso de solventes, es que al utilizar solventes se forman productos de desecho que terminan impactando al ambiente de manera negativa, además estos métodos requieren de un mayor número de operaciones unitarias y de etapas para conseguir el aceite y por lo tanto requieren mayor energía, lo que también impacta perjudicialmente al medio ambiente. La baja eficiencia de los procesos tradicionales no sólo repercute en el ambiente o los tiempos de proceso sino también en los costos, aspecto muy importante en la industria.

## RECOMENDACIONES

Se recomienda utilizar los niveles resultantes de la optimización y seguir evaluando el efecto del ultrasonido combinado con microondas, pero utilizando altas frecuencias de sonicación, para obtener los efectos de separación del aceite por medio de las fuerzas involucradas en la aplicación de la energía mecánica producida, ya que cuando se requiere operar en condiciones de no cavitación, tienen que ser evitadas las bajas frecuencias. Es conocido que la cavitación incrementa con el aumento de la presión (amplitud) y con el aumento de la frecuencia hasta que los valores máximos son alcanzados, a partir de los cuáles la cavitación se ve reducida, por lo cual es recomendable combinar las microondas en los niveles trabajados en este proyecto con ultrasonido de alta frecuencia, verificando la posible sinergia y las ventajas que ofrece la sustitución de estas tecnologías por los procesos tradicionales.

A pesar de obtener valores de índices de peróxido y de acidez bajos, es recomendable proteger al aceite de la luz, para evitar la rancidez oxidativa. Por otro lado se recomienda el consumo de aceite de aguacate por su alto contenido de polifenoles que actúan como antioxidantes y buen grado de insaturación de sus ácidos grasos, como se refleja en el índice de yodo.

Se recomienda continuar con la implementación de tecnologías emergentes, ya que en este estudio se logró sustituir el método tradicional de extracción con solventes, al haber obtenido mejores resultados con respecto a la calidad del aceite y en cuanto a que el proceso de extracción es más simple, lo que implicó ahorro de recursos, únicamente con la reserva de aumentar el rendimiento de extracción de aceite implementando otro proceso y/o investigando diferentes condiciones cada vez más complejas, quedando el presente proyecto como antecedente para futuras investigaciones.

## REFERENCIAS

- AOAC (2000). Official Methods of Analysis. *Association of Official Agricultural Chemists*. Washington, D.C.
- CILAS (2004). Particle Size Analyzer User Manual. France.
- Badui, D. S. (2012). *Química de los alimentos*. Naucalpan de Juárez, Estado de México: Pearson.
- Bi, X., Hemar, Y., Balaban, M. O., Liao, X. (2015). The effect of ultrasound on particle size, color, viscosity and polyphenol oxidase activity of diluted avocado puree. *Ultrasonics Sonochemistry*, 27, 567-575.
- Brennen, C. E. (2014). *Cavitation and bubble dynamics*. New York: Cambridge University Press, 2014.
- Camino, N. A., Pilosof, A. M. R. (2011). Hydroxypropylmethylcellulose at the oil–water interface. Part II. Submicron-emulsions as affected by pH. *Food Hydrocolloids*, 25, 1051–1062.
- CODEX STAN 197-1995.
- Dickinson, E. (2003). Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems. *Food Hydrocolloids*, 17(1), 25.
- FAO (1987). Manual para el mejoramiento del manejo postcosecha de frutas y hortalizas. *Serie Tecnología Postcosecha*, 6.
- Gómez-Díaz, J., López-Malo, A. (2009). Aplicaciones del ultrasonido en el tratamiento de alimentos. *Temas selectos de Ingeniería en Alimentos*, 59-73.
- Hettich (2005). Universal 320 Manual de operación. Alemania.
- Hielscher (2017). UP400St Operating Manual. Alemania.
- Hyperphysics (2017). Electricidad y magnetismo. Disponible en <http://hyperphysics.phy-astr.gsu.edu/hbasees/hframe.html>. Consultado 19 octubre 2017.
- Jacobo-Velázquez, D. A., Castellanos-Dohnal, G., Caballero-Mata, P., Hernández-Brenes, C. (2013). Cambios bioquímicos durante el almacenamiento de puré de aguacate adicionado con antioxidantes

- naturales y procesado con alta presión hidrostática. *Journal of Food*, 11(4), 379-391.
- Johansson, L., Singh, T., Leong, T., Mawson, R., McArthur, S., Manasseh, R., Juliano, P. (2016). Cavitation and non-cavitation regime for large-scale ultrasonic standing wave particle separation systems - In situ gentle cavitation threshold determination and free radical related oxidation. *Ultrasonics Sonochemistry*, 28, 346-356.
- Kalla, A. M., Devaraju, R. (2017). Microwave energy and its application in food industry: A review. *Asian Journal of Dairy and Food Research*, (1), 37.
- Leung, W. W. (2007). *Centrifugal separations in biotechnology*. Amsterdam: Elsevier/Academic Press.
- Martínez-Nieto, L., Nieto, L.M., Barranco, R.B., Moreno, M.V. (1992). Extracción de aceite de aguacate: Un experimento industrial, *Grasas y Aceites*. 43, 11–15.
- Martínez-Padilla, L. P., Franke, L., Xu, X., Juliano, P. (2018). Improved extraction of avocado oil by application of sono-physical processes. *Ultrasonics Sonochemistry*, 40, 720-726.
- Martínez-Padilla, L. P., Franke, L., Juliano, P. (2017). Characterisation of the viscoelastic properties of avocado puree for process design applications. *Biosystems Engineering*, 161, 62-69.
- Martínez-Padilla (2015). Guía de uso del Reómetro MCR301. Documento interno LAPRYFAL, FES Cuautitlán, UNAM.
- Matthäus, B. (2002). Antioxidant activity of extracts obtained from residues of different oilseeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(12), 3444–3452.
- McCave, I.N., Bryant, R.J., Cook, H. F., Coughanowr, C.A. (1986). Evaluation of a laser-diffraction-size analyzer for use with natural sediments: Research method paper. *Journal of Sedimentary Petrology*, 56, 561-564.
- Minolta (1991). Manual de operación. Japón.
- NMX-F-317-S-1978. Determinación de pH en Alimentos. México.

- NMX-F-428-1982. Alimentos. Determinación de humedad. (Método rápido de la termobalanza). México.
- NMX-F-033-1982. Alimentos para humanos. Puré de tomate envasado. México.
- Okeke, C., Abioye, A., Omosun, Y. (2014). Microwave Application for food Processing. *IOSR Journal of Electrical and Electronics Engineering (IOSR-JEEE)*, 9, 29-34.
- Osuna-García, J. A., Doyon, G., Salazar-García, S., Goenaga, R., González-Durán, I. J. L. (2010). Effect of harvest date and ripening degree on quality and shelf life of Hass avocado in Mexico. *Fruits*, 65(6), 367-375.
- Qin, X., Zhong, J. (2016). A Review of Extraction Techniques for Avocado Oil. *Journal of Oleo Science*, 65(11), 881-888.
- Ramírez, G.A., Jácome, C.E., Giraldo, J.C. (2013). Solución de la ecuación de Rayleigh-Plesset por medio del método del elemento finito. *Ingeniería y Ciencia*, (17), 147.
- Rao, M.A. (1999). *Rheology of Fluid and Semisolid Foods: Principles and Applications*. Gaithersburg, Maryland: Aspen Publishers, Inc.
- Raventós, M. S. (2005). *Industria Alimentaria, Tecnologías Emergentes*. Catalunya, Barcelona: Edicions UPC.
- Schaffer, B., Whiley, A. W., Wolstenholme, B. N. (2013). *The Avocado: Botany, Production and Uses*. Wallingford: CABI.
- Schwartz, M., Olaeta, J.A., Undurraga, P., Costa, V. (2007). Mejoramiento del rendimiento de extracción del aceite de palta (aguacate). *Proceedings VI World Avocado Congress*. Viña Del Mar, Chile.
- Steffe, J. F. (1996). *Rheological Methods in Food Process Engineering*. East Lansing, Michigan: Freeman Press.
- Tabilo-Munizaga, G., Moyano, R., Simpson, R., Barbosa-Canovas, G. V., Swanson, B. G. (2005). Flow and viscoelastic properties of pressurized avocado puree. *Journal of Food Processing Preservation*, 29 (3/4), 196-207.

- Tamara de Souza, J., Tiago Carregari, P., Liara Silva, D., Neuza, J., Telis-Romero, J. (2015). Physicochemical and rheological characterization of avocado oils. *Ciência e Agrotecnologia*, 39(4), 390-400.
- Vinatoru, M., Mason, T.J., Calinescu, I. (2017). Ultrasonically assisted extraction (UAE) and microwave assisted extraction (MAE) of functional compounds from plant materials. *Trends in Analytical Chemistry*.
- Zhou, L., Tey, C. Y., Bingol, G., Bi, J. (2016). Effect of microwave treatment on enzyme inactivation and quality change of defatted avocado puree during storage. *Innovative Food Science Emerging Technologies*, 37, 61-67.