



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLÁN

Extracción de aceite de pulpa de aguacate variedad Hass
por los métodos de Soxhlet, fluido supercrítico y
sonicación

TESIS

PARA OBTENER EL TÍTULO
DE INGENIERA EN ALIMENTOS

PRESENTA:
ROCÍO BERMÚDEZ ZÁRATE

ASESORES:
DRA. MARÍA ANDREA TREJO MÁRQUEZ
I.A. SELENE PASCUAL BUSTAMANTE



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.



El presente trabajo fue financiado por el proyecto **PAPIME: Elaboración de materiales educativos para fortalecer la enseñanza en el taller Multidisciplinario de Ingeniería en Alimentos Procesos Tecnológicos de Frutas y Hortalizas de la carrera de Ingeniería en Alimentos (PE202610)**, de la Dirección General de Asuntos del personal Académico (DGAPA) de la UNAM.

También se agradece por el apoyo técnico para la extracción de aceite por FSC al Dr.

Miquel Gimeno Seco, Laboratorio de Biocatálisis, Departamento de Alimentos y Biotecnología, Facultad de Química UNAM.

DEDICATORIA

Los resultados de este proyecto, están dedicados a todas aquellas personas que, de alguna forma, son parte de su culminación.

A Dios porque ha estado conmigo a cada paso que doy, cuidándome y dándome fortaleza para continuar, a mis padres, pilares fundamentales en mi vida. Sin ellos, jamás hubiese podido conseguir lo que hasta ahora. Su tenacidad y lucha insaciable han hecho de ellos el gran ejemplo a seguir y destacar, no solo para mí, sino para mis hermanos, gracias por su entera confianza en cada reto que se me presentaba sin dudar ni un solo momento en mi inteligencia y capacidad.

También dedico este proyecto a mi novio, Emilio, compañero inseparable de cada jornada. Por todo tu apoyo en momentos de decline y cansancio.

A mis profesores a quienes les debo gran parte de mis conocimientos, gracias a su paciencia y enseñanza y finalmente un eterno agradecimiento a esta prestigiosa universidad la cual abre sus puertas a jóvenes como nosotros, preparándonos para un futuro competitivo y formándonos como personas de bien.

Agradecimientos

Me gustaría que estas líneas sirvieran para expresar mi más profundo y sincero agradecimiento a todas aquellas personas que con su ayuda han colaborado en la realización del presente trabajo, en especial, a Dios por permitirme llegar a este momento tan especial en mi vida, por su infinita bondad.

Mi mayor agradecimiento esta especialmente dirigido a mis padres por su amor incondicional, por la educación recibida, la paciencia, comprensión y apoyo en todo momento a lo largo de mi vida. Gracias por ser parte de este logro.

Especial reconocimiento merece la entrega de las profesoras: Dra. Andrea Trejo Márquez y I.A. Selene Pascual Bustamante, directoras de esta investigación, por la orientación, el seguimiento y la supervisión continúa de la misma, pero sobre todo por la motivación y el apoyo recibido a lo largo de este tiempo, con las que me encuentro en deuda por el ánimo infundido y la confianza en mí depositada.

Un agradecimiento muy especial a ti Emilio por todo tu apoyo durante la carrera por ser tan comprensivo, por estar siempre a mi lado en los momentos más difíciles y ser parte de los más felices, Gracias por tu tiempo compartido por tu amor y paciencia.

Quisiera hacer extensiva mi gratitud a mis compañeros y amigos de la facultad en especial a Elisa Domínguez y Alejandra Real por todos los momentos felices y demás compartidos.

También quiero dar las gracias a los sinodales por el tiempo e interés mostrado por mi trabajo y las sugerencias recibidas siempre constructivas.

A todos ellos, muchas gracias.



ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE CUADROS.....	iv
ÍNDICE DE FIGURAS.....	v
ABREVIATURAS	vii
RESUMEN.....	viii
INTRODUCCIÓN.....	1
I. ANTECEDENTES.....	4
1.1 El aguacate.....	4
1.1.1 Clasificación botánica	4
1.1.1.1 Variedades de aguacate	5
1.2 Producción de aguacate a nivel mundial.....	7
1.3 Exportaciones mundiales.....	8
1.4 Producción nacional	9
1.5 Cambios fisiológicos y bioquímicos asociados a la maduración del aguacate....	10
1.5.1 Cambios de color.....	11
1.5.2 Ablandamiento.....	11
1.5.3 Formación de lípidos	11
1.5.4 Respiración.....	12
1.6 Composición química del aguacate y aporte nutritivo	13
1.7 Contenido lipídico de la fruta de aguacate	14
1.7.1 Localización de los lípidos en la fruta de aguacate	15
1.8 Aceite de aguacate	16
1.8.1 Características físicas y fisicoquímicas del aceite.....	16
1.8.2 Composición del aceite de aguacate	17
1.9 Métodos de extracción de aceite de aguacate	18
1.9.1 Centrifugado de pulpa de aguacate	18
1.9.2 Extracción enzimática.....	20
1.9.3 Extracción con solvente	20
1.9.3.1 Proceso de extracción Soxhlet.....	21
1.9.4 Extracción con Fluidos Supercríticos	23
1.9.4.1 Proceso de extracción con fluidos supercríticos	24
1.9.4.2 Variables durante el proceso de extracción con FSC	26



1.9.4.3	Ventajas y desventajas del uso de FSC	27
1.9.4.4	Aplicaciones agroindustriales	28
1.9.5	Extracción Asistida por Ultrasonido (UAE)	29
1.9.5.1	Mecanismo de extracción.....	29
1.9.5.2	Equipo ultrasónico.....	32
1.9.5.3	Aplicaciones del método UAE	32
II.	OBJETIVOS	35
III.	METODOLOGÍA EXPERIMENTAL	37
3.1	Cuadro metodológico.....	37
3.2	Material biológico.....	38
3.3	Tratamiento de las muestras.....	38
3.4	Selección del estado de madurez de aguacate 'Hass'	38
3.4.1	Determinación del índice de madurez.....	38
3.5	Extracción de aceite de aguacate variedad 'Hass' de dos estados de madurez. 38	
3.6	Obtención de harina a partir de pulpa deshidratada de aguacate 'Hass'.....	39
3.7	Caracterización física y química de la harina obtenida de pulpa de aguacate....	40
3.8	Extracción del aceite por el método de Soxhlet (SX)	40
3.9	Extracción del aceite por dióxido de carbono supercrítico (SC-CO ₂).....	41
3.10	Extracción del aceite asistida por ultrasonido (UAE)	42
3.11	Análisis de la identidad de los aceites obtenidos	43
3.12	Análisis de calidad de los aceites obtenidos	43
3.13	Métodos analíticos.....	43
3.13.1	Parámetros químicos.....	43
3.13.2	Análisis de identidad.....	45
3.13.3	Análisis de calidad.....	46
3.14	Análisis estadístico	46
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	49
4.1	Rendimientos de los frutos de aguacate	49
4.2	Selección del estado de madurez de aguacate (Persea americana Mill) variedad 'Hass'	50
4.2.1	Contenido de materia seca	50
4.2.2	Contenido de aceite en aguacates 'Hass' en dos estados de madurez.....	51
4.3	Caracterización física y química de la harina obtenida de la pulpa de aguacate.	52



4.4 Rendimientos de la extracción de aceite de aguacate	55
4.5. Análisis de identidad de los aceites extraídos.....	58
4.6. Análisis de los parámetros de calidad de los aceites extraídos.....	61
CONCLUSIONES	66
RECOMENDACIONES.....	67
REFERENCIAS	69

**ÍNDICE DE CUADROS**

Cuadro 1. Clasificación botánica del aguacate	4
Cuadro 2. Variedades de aguacate	6
Cuadro 3. Composición química de dos variedades de mayor importancia en México	13
Cuadro 4. Aporte nutritivo del aguacate 'Hass'	14
Cuadro 5. Propiedades de aceite de aguacate de California	16
Cuadro 6. Perfil de ácidos grasos de aceite de aguacate	17
Cuadro 7. Análisis comparativo de los métodos de extracción de aceites	19
Cuadro 8. Aceites y lípidos extraídos con CO ₂ Supercrítico	28
Cuadro 9. Aplicaciones de la UAE	33
Cuadro 10. Contenido de materia seca para aguacate variedad 'Hass' de dos estados de madurez	50
Cuadro 11. Contenido de aceite en aguacate 'Hass' en dos estados de madurez en base seca	51
Cuadro 12. Composición química de la harina de la pulpa de aguacate en base seca	54

**ÍNDICE DE FIGURAS**

Figura 1. Partes del fruto de aguacate	5
Figura 2. Producción mundial de aguacate según continente año 2008	7
Figura 3. Principales países productores de aguacate del año 2004 al 2008	8
Figura 4. Principales países exportadores de aguacate a nivel mundial en el 2007	8
Figura 5. Producción Nacional de aguacate 'Hass' periodo 2002-2009	9
Figura 6. Principales productores de aguacate 'Hass' en el año 2009	10
Figura 7. Diagrama de la composición del mesocarpio del aguacate	15
Figura 8. Extractor Soxhlet	22
Figura 9. Diagrama de fases de una sustancia pura	23
Figura 10. Proceso de extracción con Fluidos Supercríticos (FSC)	25
Figura 11. Unidad de extracción con FSC	26
Figura 12. Diagrama de la naturaleza de una onda de sonido	30
Figura 13. Proceso de cavitación de una burbuja por ultrasonido	31
Figura 14. Mecanismo de cavitación en una superficie sólida	32
Figura 16. Diagrama de proceso para la obtención de pulpa de aguacate deshidratada en polvo	39
Figura 17. Extractor Soxhlet	41
Figura 18. Extractor SFT-250 SFE/SFR	42
Figura 19. Baño de ultrasonido	42
Figura 20. Reacción de Saponificación de un triglicérido	46
Figura 21. Distribución porcentual de las fracciones de aguacate 'Hass' en dos estados de madurez	49
<i>Ingeniería en Alimentos</i>	v



Figura 22. Harina de pulpa deshidratada por microondas	53
Figura 23. Rendimientos de aceite extraído por tres diferentes métodos	55
Figura 24. Efecto de tres diferentes métodos de extracción sobre los parámetros de identidad de aceites de aguacate A) índice de yodo, B) índice de saponificación y C) materia insaponificable	58
Figura 25. Efecto de tres diferentes métodos de extracción sobre los parámetros de identidad de aceites de aguacate A) índice de acidez, B) % ácidos grasos libres e C) índice de saponificación	61

**ABREVIATURAS**

AGL	Ácidos grasos libres
AGM	Ácidos grasos monoinsaturados
AGP	Ácidos grasos poliinsaturados
AGS	Ácidos grasos saturados
°C	Grados Celsius
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (Food and Agriculture Organization of the United Nations)
FSC	Fluidos supercrítico
g l ₂ /g	gramos de lodo absorbido por gramos de muestra
kg/h	Kilogramos por hora
KHz	Kilohertz
meq peróxido/ kg	Miliequivalentes de peróxido por kilogramo de muestra
mg KOH/g	Miligramos de Hidróxido de potasio por gramo de muestra
mg KOH	Miligramos de Hidróxido de potasio
min	Minutos
mm	Milímetros
nm	Nanómetro
P	Presión
P _c	Presión crítica
ppm	Partes por millón
RBD	Refinado, blanqueado y desodorizado
SC-CO ₂	Dióxido de Carbono Supercrítico
SIAP	Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera
SX	Extracción por Soxhlet
T	Temperatura
T _c	Temperatura crítica
tm/ha	Toneladas por hectárea (rendimiento)
ton/ha	Toneladas por hectárea
UAE	Extracción asistida por ultrasonido (por sus siglas en inglés, Ultrasound Assisted Extraction)
UNAM	Universidad Nacional Autónoma de México
v/m	Relación volumen/ masa
µL	Microlitro



RESUMEN

El objetivo del presente trabajo es evaluar los métodos de extracción de aceite de pulpa de aguacate por Soxhlet, fluido supercrítico y extracción asistida por ultrasonido, así como el efecto de cada método en sus características físicas, fisicoquímicas y químicas, logrando la optimización del proceso de extracción.

Los aguacates utilizados fueron de la variedad 'Hass' procedentes del estado de Michoacán, se adquirieron en la Central de Abastos del Distrito Federal, en estado de madurez fisiológica y comercial, se seleccionaron con base en el color, consistencia firme y sin evidencia de daños mecánicos, posteriormente se dividieron en 2 lotes de acuerdo al estado de madurez. Los frutos fueron pelados, y la pulpa obtenida se homogenizó, se hizo un puré y se secó por microondas aplicando una potencia del 70% por 15 minutos. La pulpa seca se molió y tamizó hasta contar con un tamaño de partícula 0.841mm. La extracción del aceite se realizó por tres métodos: Soxhlet (SX), por dióxido de carbono supercrítico (SC-CO₂) y extracción asistida por ultrasonido (UAE).

El índice de yodo, índice de saponificación, materia insaponificable, índice de peróxido y acidez titulable se realizaron a los aceites obtenidos por los diferentes métodos. En los diferentes aceites se obtuvieron altos valores de índice de yodo y de índice de saponificación éstos oscilaron entre 106-118 g I₂/g aceite y 233-276 mg KOH/g de aceite, respectivamente. Los aceites presentaron niveles aceptables de valor de peróxidos y de acidez, siendo de 3.53-3.84 meq peróxido/kg aceite y 0.98-1.15 mg KOH respectivamente. Demostrando que el método de extracción no influye directamente en los parámetros de identidad y de calidad, pero sí en el rendimiento (16.0-63 %).



INTRODUCCIÓN

El aguacate es un fruto de suma importancia comercial para México por los beneficios económicos que otorga, ya que México ocupa el primer lugar de la producción a nivel mundial con más de 1,077,505 ton anuales (INFOHASS, 2010). Fuentes del sector industrial del aguacate indican que aproximadamente el 10% de la producción total de aguacate es industrializado, como aceite (Requejo, 1999). El aceite de aguacate se valora como un aceite comestible debido a sus valiosas propiedades nutricionales, incluyendo un alto nivel de lípidos monoinsaturados especialmente utilizado en el tratamiento de enfermedades del tejido conectivo. Sin embargo, presenta una demanda centrada en el mercado de preparaciones cosméticas y farmacéuticas, pues su materia insaponificable se explota para usos terapéuticos y dermatológicos (Pérez, 2005; Ramírez, 2008; Lozano *et al.*, 1993).

Los principales procesos utilizados para la producción de aceite de aguacate son; extracción por centrifugación, con disolventes y por prensado en frío (Requejo, 1999). Las limitaciones de los procesos convencionales que reducen la calidad del producto son: los altos costos energéticos, el uso elevado de solventes, el tiempo de extracción, las altas temperaturas que afectan a las sustancias termolábiles y la retención de restos de disolvente en el soluto (Sahena *et al.*, 2009; Mezzomo *et al.*, 2010).

Existen métodos alternativos para la extracción de aceite de aguacate, una de ellas es por fluidos supercríticos (FSC), en específico la extracción con dióxido de carbono supercrítico (CO₂-SC) se ha convertido en una importante técnica de separación en el ámbito de la alimentación, las ventajas de este método radican en el uso de bajas temperaturas y el consumo reducido de energía, la eficiencia en el uso de solventes con posibilidad de reciclaje, la prevención de las reacciones de oxidación y la alta calidad del producto debido a la ausencia de disolvente en la fase del soluto (Mezzomo *et al.*, 2010), pues el CO₂ es más seguro biológicamente debido al hecho de que no es tóxico, no inflamable, de bajo costo y fácilmente separado del extracto y de la matriz sólida (Palmer y Ting, 1995; Cossutaa *et al.*, 2008; Susaeta, 2003).



Otro método alternativo es la extracción asistida por ultrasonido (UAE), debido al uso de las ondas sonoras por arriba de los límites de audibilidad humana (frecuencias por encima de 18 KHz), generalmente se realiza en un baño ultrasónico donde el medio en el que viajan las ondas son líquidos, la extracción se realiza en una zona llamada cavitación (Cleaning Technologies Group, 2011). El empleo de el ultrasonido no solamente eleva la temperatura del disolvente (acelera la velocidad de transferencia e incrementa la solubilidad del analito), además rompe muestras de tejido y la técnica es muy fácil de usar y emplea volúmenes relativamente pequeños de disolvente (Álvarez, 2004). Existen pocos estudios sobre la extracción de aceite de aguacate variedad 'Hass' por los métodos de extracción asistida por ultrasonido y FSC, es por eso que en este estudio se evaluó el rendimiento, condiciones y características de los aceites obtenidos por estos métodos.



ANTECEDENTES





I. ANTECEDENTES

1.1 El aguacate

1.1.1 Clasificación botánica

El árbol de aguacate (*Persea americana* Mill) pertenece a la familia de las Lauráceas dicotiledóneas y es originario de las regiones de Centroamérica (Cuadro 1). El fruto fue conocido por los españoles, durante la época de la conquista, como uno de los preferidos por las poblaciones indígenas de México, Guatemala, Honduras, Nicaragua y Ecuador (Cornejo, 2010).

Cuadro 1. Clasificación botánica del aguacate

Reino	Plantae
Subreino	Tracheobionta
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliophyta
Familia	Lauraceae
Género	Persea
Especie	Americana
Nombre Binomial	<i>Persea americana</i> Mill

Fuente: Cornejo (2010)

La fruta del aguacate botánicamente se describe como una baya con un mesocarpio grueso, carnoso que rodea una semilla grande (Figura 1). Los frutos son globosos, tienen un color amarillo-verde a marrón o púrpura en la piel, que puede ser lisa o verrugosa, y el rango de peso es de 50 g a 1 kg (Requejo, 1999). El aguacate se compone de un exocarpio o cáscara, un mesocarpio carnoso, endocarpio delgado y carnoso y la semilla. La pulpa o mesocarpio contribuye del 50 al 80% del total del fruto, mientras que la semilla del aguacate consta de 10 a 25% del peso total del fruto (Lewis, 1978). La porción amarilla del mesocarpio debe su color a los pigmentos β -caroteno, criptoxantina, luteína crisantemaxantina e isoluteína. La semilla se compone de dos cotiledones carnosos cubiertos por dos capas de semilla fina que se adhieren entre sí. Los cotiledones consisten de tejido parénquima con gotas de aceite dispersas y contienen almidón como el material principal de almacenamiento (Barrientos *et al.*, 1996).

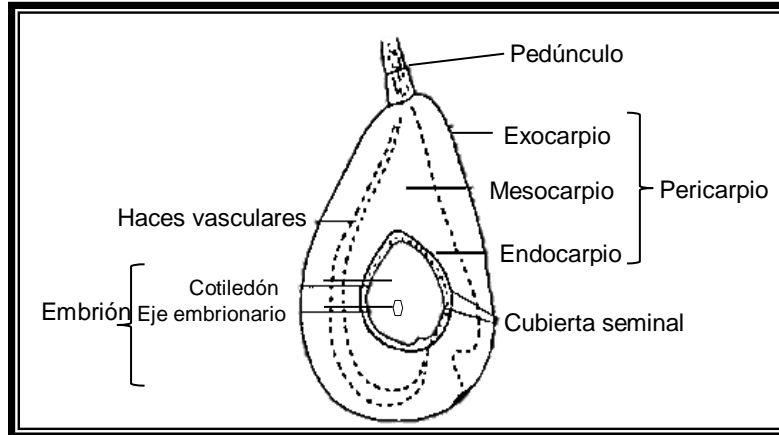


Figura 1. Partes del fruto de aguacate

Fuente: Cornejo (2010)





1.1.1.1 Variedades de aguacate

Los aguacates se dividen en tres especies hortícolas de acuerdo a las zonas de origen y las características distintivas: *Persea nubigena* var. *Guatamalensis* L. WMS de Guatemala, *Persea americana* var. *drymifolia* Blake de México, *P. americana* Mill. var. *americana* de las Indias Occidentales. Las formas híbridas existen entre los tres tipos (Requejo, 1999).

La especie mexicana, la cual se originó en las montañas de México y en América central, está formada por variedades que vegetan bien en diversos climas, se caracteriza por frutos pequeños de piel fina de color negro o verde. Los aguacates mexicanos maduran con relativa rapidez en un plazo de seis a ocho meses y de todos los aguacates son los más ricos en su contenido de lípidos hasta de un 30%. La especie guatemalteca originaria de las tierras altas de América Central, está constituida por variedades que manifiestan buena resistencia al frío, su cáscara es gruesa y quebradiza, como la variedad 'Hass'. Existen además innumerables híbridos (Cuadro 2), como la variedad 'Fuerte' de importancia comercial considerable, la cual se considera un cruzamiento entre la especie mexicana y guatemalteca (Hope, 1983).



Cuadro 2. Variedades de aguacate

Variedad	Tamaño	Características
 <p data-bbox="483 1581 513 1680">'Bacon'</p>	<p data-bbox="386 930 467 1255">fruto de tamaño mediano de forma oval</p>	<p data-bbox="362 289 492 909">Variedad verde de sabor suave, con piel verde y delgada, pulpa amarilla verdosa, su peso varía entre 200- 400g. Originario de California.</p>
 <p data-bbox="751 1581 781 1680">'Fuerte'</p>	<p data-bbox="670 972 703 1213">piriforme a oblongo</p>	<p data-bbox="597 289 784 909">Variedad que tiene características intermedias entre las razas mexicanas y guatemaltecas, considerándose un híbrido natural de estas dos razas, de peso entre 180-420 g.</p>
 <p data-bbox="1008 1581 1037 1680">'Gwen'</p>	<p data-bbox="906 951 987 1234">fruta oval, con semilla pequeña a mediana</p>	<p data-bbox="906 310 995 898">Variedad verde parecida al 'Hass', en tanto a sabor y textura pero un poco más grande.</p>
 <p data-bbox="1252 1581 1281 1680">'Hass'</p>	<p data-bbox="1141 951 1222 1234">forma oval, semilla de pequeña a median</p>	<p data-bbox="1092 300 1279 898">Variedad que esta disponible todo el ano, se distingue porque su piel se vuelve de verde al verde purpurino cuando madura. Originario de México.</p>

Fuente: Cornejo (2010)



1.2 Producción de aguacate a nivel mundial

El árbol del aguacate se encuentra ampliamente distribuido, su fruto se conoce en casi todo el mundo aunque se le cultiva principalmente en América. La importancia del aguacate en el mercado internacional, ha venido creciendo sostenidamente, dejando de ser una fruta exótica para incorporarse en la dieta de un buen número de personas. El área mundial sembrada de aguacate, según datos de la FAO al 2008, (último año publicado), suma 423.824 ha para una producción total de 3.5 millones de toneladas (FAO, 2011).

El rendimiento mundial promedio es de 8.3 ton/ha (Figura 2). El continente americano participa con 70% de la producción mundial, siendo México el productor más grande con 32% de esa producción total (45% del continente americano). Los mejores rendimientos se obtienen en República Dominicana (29.8 tm/ha), Israel (16.2 tm/ha), Brasil (15.7 tm/ha) y Guatemala (10.4 tm/ha) (SIIM, 2010).

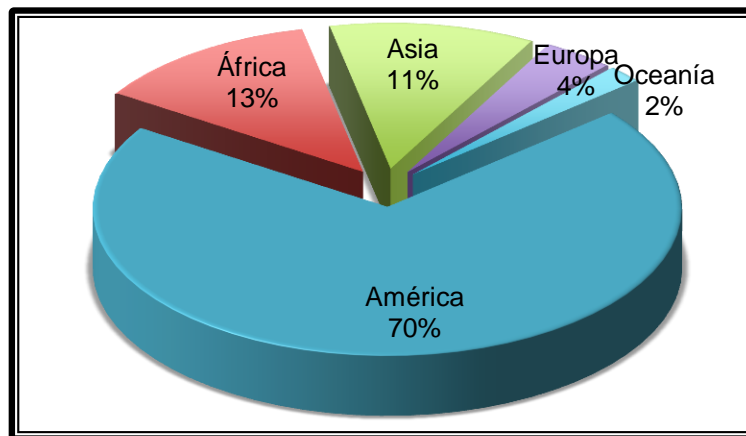


Figura 2. Producción mundial de aguacate según continente año 2008

Fuente: Elaborado a partir de información de la FAO (2011)

En la Figura 3 se presenta los datos de producción mundial para el período 2004–2008; se puede observar una ligera caída para el último año mostrado. E.U. y Colombia son los dos países que presentan disminución en su volumen de producción en el 2008 respecto del 2007, con 3.5 y 5 %, respectivamente. Aunque México también presenta una pequeña baja de 2 %, de acuerdo con estas estimaciones de la FAO (SIIM, 2010).

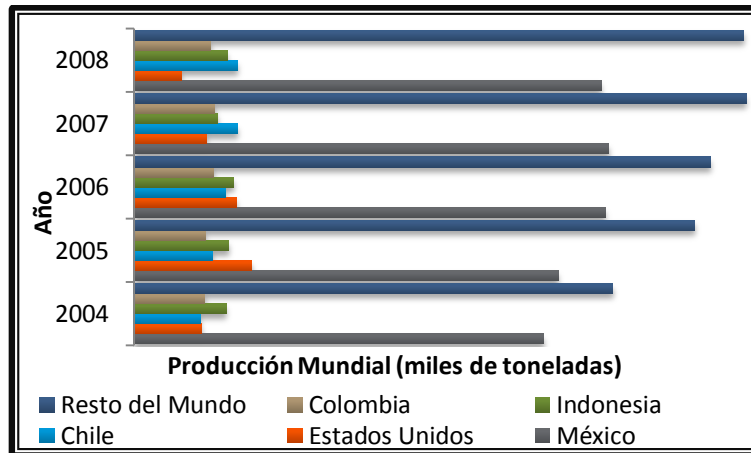


Figura 3. Principales países productores de aguacate del año 2004 al 2008

Fuente: Elaborado a partir de información de SIIM (2010)

1.3 Exportaciones mundiales

México, es el líder mundial en exportaciones, produce esta fruta durante todo el año, principalmente en el estado de Michoacán que se enfoca a los mercados externos (Figura 4). Su mayor volumen sale entre enero y junio donde participa con el 38% de las exportaciones, colocándose entre los principales exportadores del mundo, seguido muy de cerca por Chile que es el segundo productor mundial. España ocupa el octavo lugar en producción a escala mundial con el 6%, es el tercero en exportaciones, seguido por Israel, país que en área mundial está por debajo de Costa Rica pero por sus altos rendimientos logra exportar un volumen importante: 43.98 toneladas aportando el 5% (FAO,2011).

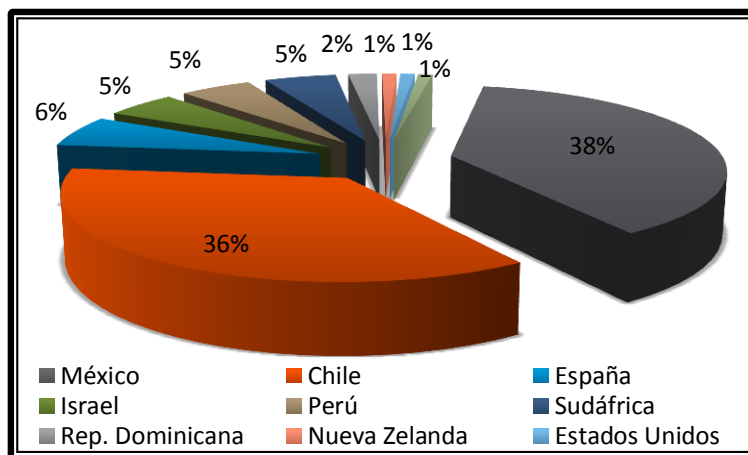


Figura 4. Principales países exportadores de aguacate a nivel mundial en el 2007

Fuente: Elaborado a partir de información de la FAO (2011)



1.4 Producción nacional

A nivel nacional, la producción de aguacate en 2009 fue de 1.23 millones de toneladas, lo que representó un aumento del 5.9% respecto al año anterior. En el periodo comprendido entre 2002 y 2009, la Tasa Media Anual de Crecimiento, se ubicó en 4.5%, lo que representa un crecimiento total de 36.61% (Figura 5). La situación hasta el 31 de Julio de 2010 es de 709.878 miles de toneladas según los datos reportados por el Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP) para este año (SIAP-SAGARPA, 2010).

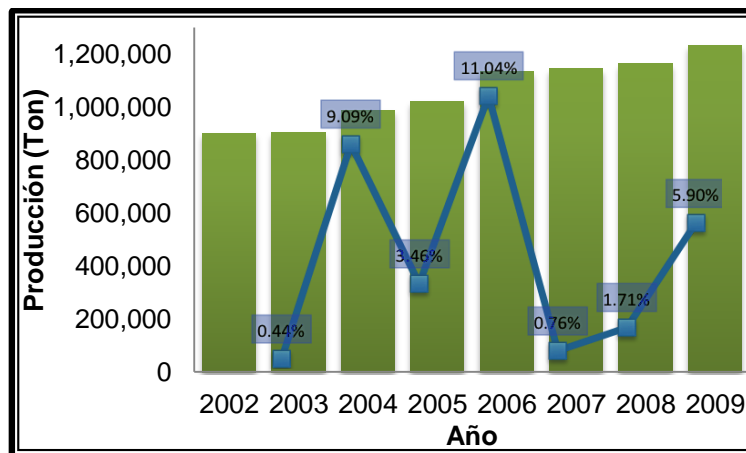


Figura 5. Producción Nacional de aguacate ‘Hass’ periodo 2002-2009

Fuente: Elaborado a partir de información de la SIAP-SAGARPA (2010)

El principal productor a nivel nacional es Michoacán, donde en el 2009 participó con el 87.89%, lo que equivale a un total de 1,081,903 toneladas, le sigue el estado de Morelos con el 2.55% de la producción nacional con un volumen de 31.44 miles de toneladas, el estado de Nayarit con un promedio de 26.62 miles de toneladas y aportó con el 2.16% de la producción nacional y también se encuentra el estado de México con 21.85 miles de toneladas, este estado sólo aportó con el 1.7%, es de mencionar que esta región está tomando importancia en la producción nacional que en años anteriores no se había mostrado (SIAP-SAGARPA, 2010). En la Figura 6, se muestran los principales estados productores de aguacate en el año 2009.

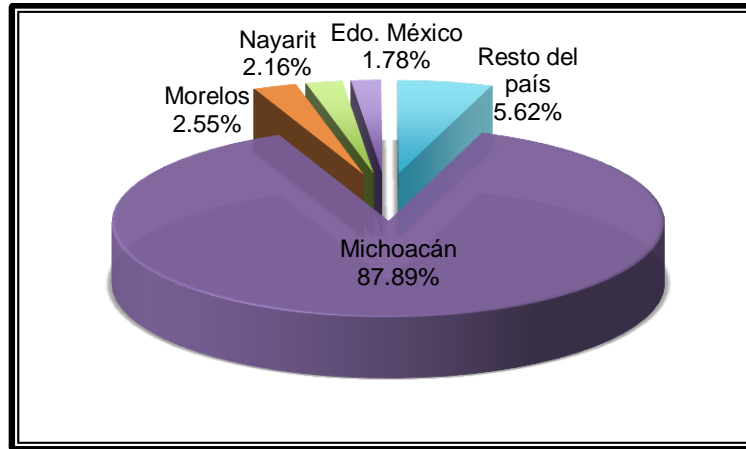


Figura 6. Principales productores de aguacate 'Hass' en el año 2009

Fuente: Elaborado a partir de información de la SIAP (2010)

1.5 Cambios fisiológicos y bioquímicos asociados a la maduración del aguacate

El proceso de maduración del aguacate está marcado por una variedad de cambios bioquímicos que incluyen incrementos en la producción de etileno y en la respiración, ablandamiento y desarrollo de componentes de sabor. A diferencia de la mayoría de frutales, el aguacate no alcanza la madurez de consumo en el árbol, sino después de que se cosecha (Cutting *et al.*, 1990; Nagalingam, 1993). Este fenómeno parece estar explicado por la presencia de una sustancia que actúa como regulador de la maduración y que se trasloca desde el pedúnculo una vez que se independiza el fruto del árbol (Tingwa y Young, 1975).

Los frutos de aguacate para que logren un buen sabor se deben cosechar cuando alcance la madurez fisiológica, la cual es el estado de desarrollo donde la mayoría del crecimiento ha ocurrido, de manera que una vez alcanzada la madurez de consumo, presente una calidad aceptable (Lee *et al.*, 1983; Martínez, 1984).

La madurez de consumo corresponde a aquel estado de desarrollo de los frutos en que se presentan en su máxima expresión las condiciones organolépticas y de atracción del fruto (Vakis y Papademetriou, 1985). Para llegar a la madurez de consumo, se requiere de un periodo, que corresponde a la secuencia de cambios en color, sabor y textura, los cuales llevan al estado en que la fruta está apta para ser consumida (Lewis, 1978).



1.5.1 Cambios de color

Los frutos cambian de apariencia a medida que se acercan a su madurez. La cáscara pierde su brillo y suavidad y se pone más opaca, el color rojizo de la superficie aumenta, las variedades que se vuelven negras al madurar pueden hacerlo en parte en el árbol. La cubierta de la semilla será usualmente delgada y café en lugar de ser carnosa y blanca (Bergh *et al.*, 1989). Hay disminución de color verde (clorofila) debido a una baja de su contenido de clorofila ya que se descompone durante la maduración; la degradación de la clorofila ocurre en los cloroplastos e implica la presencia de la enzima clorofilasa, cambios en el pH y reacciones de oxidación. Después de desaparecer la clorofila comienza un incremento en la síntesis de pigmentos de color amarillo, naranja y rojo (carotenoides y antocianinas).

1.5.2 Ablandamiento

El ablandamiento del fruto es el principal aspecto del proceso de maduración y se considera como una consecuencia de modificaciones en la composición y estructura de la pared celular. Estudios detallados de la pared celular durante el proceso de maduración del fruto muestran cambios en su composición. Las pectinas son removidas de la matriz de la pared celular hasta que la lámina media desaparece después del climaterio. La celulosa es el principal componente de la pared celular, lo que sugirió su participación de la enzima celulasa en el reblandecimiento de frutos (Awad y Young, 1979; Hatfield y Nevins, 1986) que es sintetizada al inicio del climaterio y muestra gran actividad durante este periodo y es activada por el etileno e inhibida por el oxígeno (Pesis *et al.*, 1978; Kanellis *et al.*, 1989).

Las celulasas degradan las microfibrillas de celulosa lo que propicia la disrupción de la matriz de la pared celular y la exposición de pectatos y otros polímeros cementantes de la pared celular a la acción de pectinasas y poligalacturonasas (Plat-Aloia *et al.*, 1980; Hatfield y Nevins, 1986). Así, la primera fase de ablandamiento del fruto se debe a la acción de las celulasas, las que están sujetas a un fuerte control por el etileno, en tanto que las poligalacturonasas son las responsables de la fase final de ablandamiento (Bower y Cutting, 1988).

1.5.3 Formación de lípidos

La madurez del fruto está basada en el metabolismo de lípidos, con una rápida acumulación de aceite y de materia seca (Luza *et al.*, 1990; Eaks, 1990); el mayor



incremento es del ácido insaturado oleico, que es el principal constituyente. Este incremento de aceite va acompañado de una baja en la concentración de azúcares C_7 que revela la importancia de los azúcares solubles en los procesos de respiración asociados con la fisiología postcosecha y madurez de fruto (Liu *et al.*, 1999).

En el mesocarpio se lleva a cabo la formación de aceite, lo cual se realiza en células especializadas. Esta formación de lípidos, depende del rompimiento del material hidrocarbonado a acetato, seguido de una síntesis de ácidos grasos desde el acetato, de tal manera que disminuyen los azúcares almacenados en la pulpa del fruto y aumenta el contenido de aceite durante el crecimiento y desarrollo de éste (Liu *et al.*, 1999; Esteban, 1993).

1.5.4 Respiración

El aguacate es un fruto climatérico, con un incremento en la tasa de respiración de cuatro veces en el clímax, que precede al ablandamiento y a la maduración de consumo y es requisito para estos procesos (Blanke y Whiley, 1995). El principal sustrato para la respiración lo constituyen azúcares provenientes del almidón degradado por las enzimas α y β -amilasa, aunque también se degradan ácidos grasos por β -oxidación (Blanke, 1991; Pesis *et al.*, 1978).

La maduración de consumo se alcanza entre 1 y 4 días después del clímax respiratorio. Este no suele ocurrir a 5 °C, ni tampoco sobre 30 °C en forma normal; la tasa respiratoria se incrementa y se adelanta el clímax en temperaturas entre 7.5 y 25 °C (Biale y Young, 1962). A 15 °C el aguacate 'Hass' inicia el climaterio a los 13 días después de la cosecha. Aumentos de temperatura a 25 °C o más, dan lugar a una maduración irregular de frutos, con un rápido ablandamiento; se producen depresiones en la pulpa, se desarrollan olores y sabores extraños y se incrementa la incidencia de hongos fitopatógenos oportunistas que deterioran la fruta) y por encima de 40 °C se inhibe la maduración (Lee y Young, 1983; Eaks, 1978).

El aguacate, como muchas frutas tropicales y subtropicales presentan daño por frío a temperaturas críticas (5-13 °C para aguacates verde-maduros, dependiendo del cultivar y de la duración a la baja temperatura, 2-4 °C para aguacates con madurez de consumo), lo cual se caracteriza por un cambio de color café grisáceo en el mesocarpio, picaduras en la superficie, oscurecimiento del fruto y desarrollo de olores y sabores desagradables.



1.6 Composición química del aguacate y aporte nutritivo

La porción comestible del aguacate está constituida principalmente por grasas, proteínas, carbohidratos y minerales, en concentraciones que varían dependiendo de la variedad, localización y del estado fisiológico del fruto. En el Cuadro 3, se ilustra la diferencia en la composición entre las dos variedades de mayor importancia económica en México, 'Fuerte' y 'Hass'.

Cuadro 3. Composición química de dos variedades de mayor importancia en México

Composición (%)	'Hass'	'Fuerte'
Porción comestible	75.0	71.3
Humedad	68.4	65.7
Proteína	1.8	1.5
Grasa	20.0	26.6
Carbohidratos	7.8	4.6
Cenizas	1.2	1.6

Fuente: Cornejo (2010)

La importancia alimenticia del aguacate se debe a que posee hasta 1.8% de proteínas y un alto contenido de lípidos, en donde los ácidos grasos predominantes son el oleico, linolénico y palmítico. La relación de ácidos grasos insaturados a saturados es alta, por lo que comparado con otros frutos es de fácil digestión y rápida asimilación (Hernández, 1979).

En su valor nutritivo se considera su alto contenido en vitaminas tales como: la tiamina, riboflavina, niacina, piridoxina y ácido pantoténico, así como la presencia de minerales de interés nutricional como el fósforo, hierro, calcio, potasio y un alto contenido de glutamina, que es un antioxidante que sirve para capturar radicales libres que pueden dañar nuestro organismo, aporta prácticamente todas las vitaminas requeridas por el organismo; a excepción de la vitamina B12, presente sólo en el reino animal (FIRA, 1990). Destacándose dentro de las hidrosolubles el importante porcentaje de ácido ascórbico, que potencializa el poder antioxidante de los tocoferoles presentes en la vitamina E; el aporte de las vitaminas liposolubles es suficiente en cantidad, sin la presencia de colesterol y con un bajo porcentaje de ácidos grasos saturados, la vitamina B9 o ácido fólico, imprescindible para prevenir enfermedades en el feto; y B6, necesaria para



metabolizar las proteínas. El aguacate, es la fruta que más fibra dietética contiene. La importancia alimenticia del aguacate se debe a que posee un gran número de componentes nutricionales que aportan beneficios al ser humano, en el Cuadro 4, se muestra dichos componentes y su porcentaje presente en 100 g de pulpa de aguacate de la variedad 'Hass'.

Cuadro 4. Aporte nutritivo del aguacate 'Hass'

Composición del aguacate crudo por cada 100g de pulpa			
Energía	161 kcal	Hierro	0.40 mg
Agua	68.4 g	Zinc	1 mg
Grasa	20 g	Vitamina C	7.8 mg
Proteína	1.8 g	Vitamina B1	0.108 mg
Hidratos de Carbono	7.8 g	Vitamina B2	0.122 mg
Fibra	5 g	Vitamina B6	0.280 mg
Potasio	600 mg	Vitamina A	61 UI
Sodio	10 mg	Vitamina E	1.340 mg
Fósforo	41 mg	Folacina	62 mg
Calcio	11 mg	Niacina	1.921 mg
Magnesio	39 mg	Glutamina	27.7 mg
Cobre	0.26 mg	Luteína	284 µg

Fuente: Cornejo (2010)

1.7 Contenido lipídico de la fruta de aguacate

Entre todas las frutas, solo el olivo (*Olea europea*) (22-32%) y el fruto de palma aceitera (*Elaeis Eleaeis*) con aproximadamente un 35%, puede competir con el aguacate en el contenido de aceite (Lewis, 1978). Existe una gran variabilidad en la concentración de lípidos en el aguacate. Por ejemplo, los cultivares occidentales de la India son los más bajos con 4.7%, los frutos de Guatemala varían de entre 10 a un 13%, mientras que los rendimientos de la raza mexicana entre el 10 y el 15% y 15 a 25% en California (Requejo, 1999).

En general, los lípidos en las plantas tienen dos funciones básicas, ya sea estructurales o como un mecanismo de almacenamiento. Los lípidos estructurales están presentes en las membranas donde existe la formación de la bicapa de lípidos como los fosfolípidos y glucolípidos, por lo tanto se consumen como parte de la fruta.



Los lípidos de almacenamiento son los triglicéridos presentes en las células de grasa del mesocarpio, el 85% de los lípidos presentes en los aguacates se encuentran de esta forma (Liu *et al.*, 1999; Luza *et al.*,1990).

1.7.1 Localización de los lípidos en la fruta de aguacate

Los lípidos del aguacate se acumulan en un tipo especializado de célula en el mesocarpio llamada idioblasto. Como se puede observar en la Figura 7 el mesocarpio del aguacate está compuesto por células parenquimáticas isodiamétricas impregnada de haces vasculares y en donde también se encuentran dispersos los idioblastos (Platt-Aloia y Thomson, 1981). Aunque hay pequeñas gotas de aceite en las células del parénquima, Schroeder (1985, 1987) mostró que la mayor concentración de lípidos en el interior de los idioblastos. Además, se demostró que existe una mayor concentración de idioblastos al final del pedúnculo de la fruta y esto disminuye hacia la semilla.

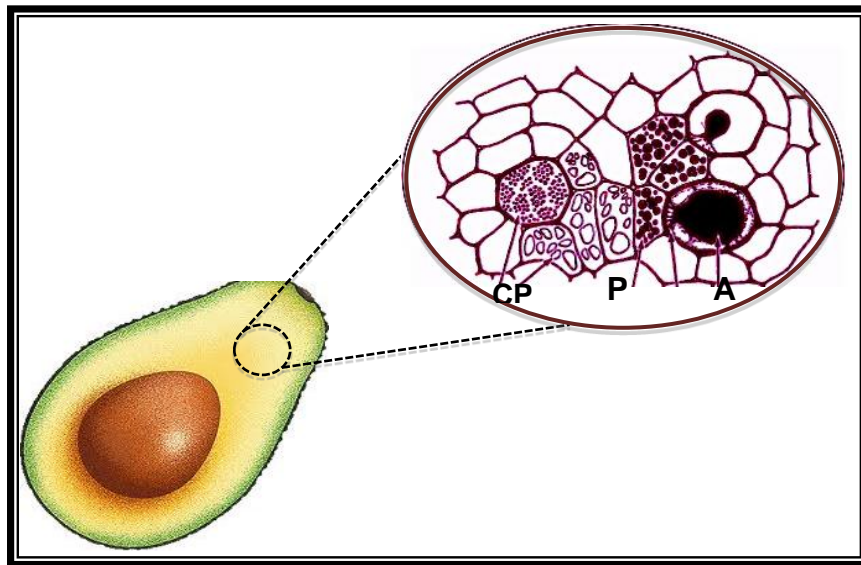


Figura 7. Diagrama de la composición del mesocarpio del aguacate:(A) gota de aceite en idioblasto, (P) plasmodesmos; (CP) células del parénquima.

Fuente: Scott *et al.* (1963)



1.8 Aceite de aguacate

Las características más importantes de este aceite son su composición de ácidos grasos, es similar al aceite de oliva, y su alto contenido de vitaminas, especialmente vitamina E, lo que le otorga importantes propiedades antioxidantes (García, 2008).

En el aguacate de la variedad 'Hass' se ha encontrado que por su alto contenido de pulpa y alto contenido de aceite, es el más compatible con el proceso de extracción; sin embargo, la calidad del aceite también depende de la región en donde se cultive, así como de la madurez de la fruta. El contenido de aceite de esta fruta puede oscilar entre el 16–17% en septiembre hasta el 25–30% en abril, además no sólo contiene más aceite, sino que es más fácil la extracción (Pérez, 2005).

1.8.1 Características físicas y fisicoquímicas del aceite

Muchos factores afectan las características químicas y físicas del aceite de aguacate y éstos pueden dividirse en los que actúan durante la formación del aceite de la fruta en el árbol, aquellos durante el almacenamiento y maduración de la fruta, los que actúan en los procesos de extracción (las características físico-químicas varían dependiendo del nivel de refinamiento del aceite, Cuadro 5), y los que actúan durante el almacenamiento de aceite de aguacate.

Cuadro 5. Propiedades de aceite de aguacate de California

Propiedad	Aceite crudo (Requejo, 1999)	Aceite totalmente refinado (NMX-F-052-SCFI-2008)
Color	Verde oscuro	Amarillo claro
Ácidos grasos libres (%)	1-3	0.1 máximo
Índice de yodo (cg I ₂ /g)	80-90	85-90
Índice de Saponificación (mg KOH/g)	-	177-198

El aceite crudo obtenido es muy fuerte en sabor y olor, de color verde oscuro, el color verde del aceite se deriva de la clorofila y es un beneficio atractivo para los productos gourmet y cosméticos, ya que confiere al producto una apariencia más natural. Esta es una característica deseable debido a la tendencia de consumir productos derivados de fuentes naturales. Sin embargo, un alto contenido de clorofila (40-60 ppm) puede tener



efectos adversos en su estabilidad oxidativa cuando se almacena bajo luz (Werman y Neeman, 1987).

1.8.2 Composición del aceite de aguacate

El aguacate es un alimento rico en nutrientes que contiene una alta proporción de ácidos grasos monoinsaturados (AGM), una baja cantidad de ácidos grasos saturados (AGS) y por su origen vegetal no contiene colesterol. Según Duester (2000) cerca del 60% de los ácidos grasos son monoinsaturados, el 20% poliinsaturados y los demás, saturados (Cuadro 6). Cuando el fruto madura disminuye el contenido de ácido palmítico (saturado) y aumenta el del ácido oleico (moinsaturado).

Cuadro 6. Perfil de ácidos grasos de aceite de aguacate

Ácidos grasos	Rango (%)
Saturados	7-32
Palmítico (C 16:0)	7-32
Esterárico (C18:0)	<1.5
Monoinsaturados (ω-9)	52-93
Palmitoleico (C16:1)	2-13
Oleico (C18:1)	50-80
Poliinsaturados	18
ω -6: Linoleico (C18:2)	3-18
ω -3: Linolénico (C 18:3)	0.1-.2

Fuente: García (2008)

- Ácidos Grasos Saturados

El aceite de aguacate sólo contiene una pequeña cantidad de AGS comparable al del aceite de girasol, de maíz, de soya y de cacahuate, dependen de la variedad y el estado de madurez (varía entre 10 y 19%) (Pérez, 2005).

- Ácidos Grasos Monoinsaturados

El ácido oleico es el más abundante en la naturaleza. El ácido oleico llega a alcanzar hasta un 80% del total de los ácidos grasos en el aceite de aguacate (Pérez, 2005).



- Ácidos Grasos Poliinsaturados

El aceite de aguacate está en una posición intermedia entre los aceites vegetales respecto al contenido de ácidos grasos poliinsaturados (AGP) (11-15%). Contiene niveles más elevados de AGP (11-15%) que el aceite de oliva o de palma, pero sus niveles son más bajos que el aceite de maíz, de algodón, de soya y de girasol (Pérez, 2005).

En lo que respecta a la industrialización mundial, existen cinco grandes plantas de producción de aceite de aguacate y que por su importancia son los que hasta la fecha han dictado el precio mundial de este producto: Israel que produce puré, aceite y subproductos, shampoo, crema y jabones es el más diversificado. Estados Unidos con la empresa Calavo a la cabeza y orientando sus objetivos al puré o guacamoles, aceite comestible y sopas enlatadas. Sudáfrica que se dedica únicamente a la producción de aceite utilizando aguacate de desecho, Kenya con producción de aceite al igual que Brasil (Del Castillo, 2004).

La industria farmacéutica extrae del aceite del aguacate el factor H, que es una sustancia poseedora de propiedades curativas, la cual se utiliza en la industria de alimentos para perro y en la fabricación de aceite comestible.

1.9 Métodos de extracción de aceite de aguacate

A continuación, se describe cada método de extracción de aceite, su fundamento, ventajas y desventajas, así como sus limitaciones. En el Cuadro 7 se presenta una comparación realizada entre los diferentes métodos de extracción.

1.9.1 Centrifugado de pulpa de aguacate

La técnica más reciente es la centrifugación de la pulpa de aguacate, también conocida como prensado en frío, se realiza en los frutos maduros en donde el fruto de aguacate se hace pasar a través de un molino de martillo y la pasta resultante se bombea a un malaxador donde es calentado y presionado mecánicamente hasta que el aceite comience a separarse (Benedito *et al.*, 2004). La pasta se bombea a una centrífuga donde se separan los sólidos de los líquidos. En algunos casos se añade agua y este proceso también se conoce como "extracción acuosa". El agua y el aceite vegetal se separan en un proceso de centrifugado final. El rendimiento obtenido por este método es generalmente alto, que requiere mano de obra limitada es continuo y automático. Sin embargo, este proceso es caro, tiene un alto consumo de energía, los rendimientos varían



de acuerdo a la cantidad de agua que hay que eliminar, además reduce los niveles de antioxidantes debido a la adición de agua.

Cuadro 7. Análisis comparativo de los métodos de extracción de aceites

Método de extracción	Ventajas	Limitaciones
Destilación con vapor	<ul style="list-style-type: none"> • Método industrial y de laboratorio • Buenos rendimientos en aceite extraído • Obtención del aceite puro, libre de solvente • Bajo costo • Tecnología no sofisticada 	<ul style="list-style-type: none"> • Procesos colaterales como polimerización y resinificación de los terpenos • Hidrólisis de los ésteres • Destrucción térmica de algunos componentes
Extracción con solvente	<ul style="list-style-type: none"> • Uso de temperaturas bajas • No provoca termo destrucción ni alteración química de los componentes del aceite • Posibilidad de separación de componentes 	<ul style="list-style-type: none"> • Costoso • Contaminante del ambiente • Riesgo de incendio y explosión • Difícil de separar del solvente sin alterar la composición del aceite • Co-extracción de ácidos grasos, ceras y pigmentos
Extracción con CO ₂ -SC	<ul style="list-style-type: none"> • Alto rendimientos • Ecológicamente limpio • Fácil retiro y reciclaje del solvente • Bajas temperaturas de extracción • No hay alteración química del aceite • Cambiando parámetros operacionales se puede cambiar la composición del aceite extraído 	<ul style="list-style-type: none"> • Ácidos grasos, pigmentos y ceras también pueden ser extraídos junto con el aceite • Alta inversión inicial
Extracción asistida por Ultrasonido (AUE)	<ul style="list-style-type: none"> • Alto rendimiento • Reducción del tiempo total de extracción • Bajas temperaturas de extracción • Alta transferencia de masa 	<ul style="list-style-type: none"> • Filtración necesaria • Uso de disolvente

Fuentes: Esquivel (2007); Cleaning Technologies Group (2011).



1.9.2 Extracción enzimática

La Extracción enzimática de aceite se puede dividir en tres categorías:

- a) Extracción con solvente y enzimas mejoradas,
- b) Extracción asistida por enzimas y
- c) Extracción acuosa asistida por enzimas.

En todos estos métodos, el objetivo de la utilización de enzimas es romper la pared celular y la liberación del aceite por parte de algunos medios mecánicos (Owusu-Ansah, 1997). La extracción de aceite de los frutos como el aguacate se ha mejorado parcialmente acelerando los procesos naturales de degradación enzimática en la pulpa de aguacate, por lo que favorece la separación del aceite de otras macromoléculas al que el aceite está vinculado. Estudios de extracción de aceite de aguacate a escala de laboratorio han indicado un aumento de 4-5 veces superior al aceite de oliva después del tratamiento enzimático, la α -amilasa resultó ser la mejor enzima para la optimización de la extracción de aceite de aguacate (Domínguez *et al.*, 1994).

1.9.3 Extracción con solvente

Junto con extracción mecánica utilizando la fuerza centrífuga, la extracción por Soxhlet consiste en método de extracción sólido-líquido, fue probablemente, hasta hace poco el método más común de extraer el aceite de aguacate. El fundamento radica en la afinidad de los disolventes por la fracción no polar que compone al aceite, lo que permite su total solvatación y facilitando la obtención del aceite eliminando el disolvente con una destilación simple y además permitiendo su recuperación para volver a ser empleado en el proceso.

Para obtener la mayor cantidad de aceite posible, se debe tomar en cuenta diversos factores que afectan a la extracción como son (Zamora, 2009):

a) Tiempo de extracción. Tiene una gran importancia ya que es determinante sobre la cantidad de aceite extraído.

b) Cantidad de disolvente. La cantidad de disolvente empleado varía en peso/volumen dependiendo de la materia prima de la que se va a extraer.



c) Temperatura del disolvente. El incremento en la temperatura del disolvente durante la extracción puede favorecer a la misma, sin embargo debe de controlarse puesto que si se excede la aplicación de calor, puede tener efectos desfavorables.

d) Tipo de disolvente. La adecuación del tipo de disolvente que se empleará para la extracción es muy importante ya que deberán poseer las siguientes características:

- Tener alta afinidad por la fracción oleosa de la materia prima
- No ser tóxicos ya que el aceite extraído es para consumo
- Fácil adquisición
- Tener puntos de ebullición bajos
- No deben producir productos indeseables durante el proceso de extracción

Los solventes más utilizados son hexano y éter de petróleo. El requisito esencial para la extracción por solvente de aceite es la ruptura de las semillas o piensos para hacer la pared celular más porosa. Según Diosady *et al.* (1983) una completa ruptura de la pared celular es necesaria para una extracción rápida. En trabajos de Lewis (1978), se obtuvo aproximadamente 74 a 75% de aceite en base seca de la pulpa de aguacate de la variedad 'Fuerte' usando éter de petróleo como disolvente por un tiempo de extracción de cuatro horas.

1.9.3.1 Proceso de extracción Soxhlet

El esquema del instrumento es sencillo, (Figura 8). El matraz es calentado hasta que el disolvente orgánico se evapora, el vapor de disolvente atraviesa el cartucho que contiene la muestra ascendiendo por el contenedor hasta el refrigerante. Cuando el vapor de disolvente llega al refrigerante éste condensa y cae en forma líquida de nuevo en dirección al matraz pero, en su camino éste golpea con la muestra disolviéndola (para que esto ocurra la muestra debe estar perfectamente seca y finamente dividida) (James, 1999).

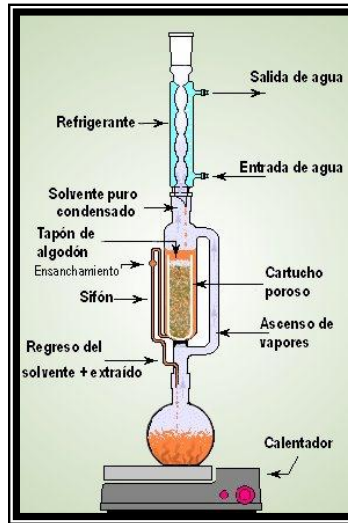


Figura 8. Extractor Soxhlet
Fuente: University Bristol (2011)

Cuando el proceso de disolución se da por finalizado se añade una última etapa: la evaporación. El disolvente se evapora por calentamiento concentrando la muestra. Las ventajas de la extracción Soxhlet son (Salamanca y Bermúdez, 2009):

- El disolvente y la muestra están en contacto íntimo y repetido. De manera que se mejora la extracción porque siempre se emplea un disolvente limpio.
- El disolvente proviene de una condensación luego es líquido y está caliente, favoreciendo la solubilidad del analito.
- No se requiere filtración posterior. El disolvente orgánico se evapora quedando sólo el analito.
- Gran capacidad de recuperación.
- Instrumentación simple.

Los inconvenientes de la extracción Soxhlet son (Salamanca y Bermúdez, 2009):

- Es un proceso extremadamente lento e imposible de acelerar.
- Se requiere gran cantidad de disolvente.
- Inaplicable a analitos termolábiles, que se descompongan con el calor o reaccionen.



- Necesidad de etapa final de evaporación.
- El método no depende de la matriz.

1.9.4 Extracción con Fluidos Supercríticos

La extracción supercrítica es una operación unitaria de transferencia de masa que se efectúa por encima del punto supercrítico del solvente; permite controlar y manipular propiedades tales como: la difusividad, viscosidad y densidad del fluido mediante pequeños cambios de presión y temperatura; lo que conlleva a una variación en la selectividad y el poder de solvencia de este (Gallego, 2004).

El principio de la extracción con fluido supercrítico puede ser explicado mediante un diagrama de fase para el dióxido de carbono (Figura 9): el punto de ebullición de dióxido de carbono a 1 bar es 78.5°C, su presión crítica es de 72.9 bar y su temperatura crítica es 31.1°C (Susaeta, 2003). Las regiones de temperatura y presión se pueden observar donde la sustancia existe como una fase única. Estas fases están separadas por las curvas de coexistencia de las fases sólido-gas, sólido-líquido y líquido-gas, que corresponden a los equilibrios de sublimación, fusión y vaporización, respectivamente. Las curvas se cortan en un punto, denominado punto triple, en el cual coexisten en equilibrio las tres fases: sólida, líquida y gaseosa (Susaeta, 2003).

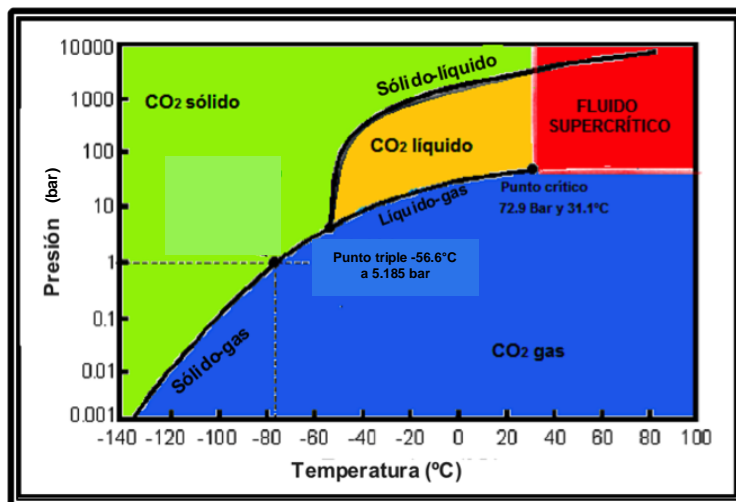


Figura 9. Diagrama de fases de una sustancia pura

Fuente: Susaeta (2003)



A una presión constante, una transición de fase ocurre a una determinada temperatura llamada de transición, que es diferente cuando la presión varía. A esta temperatura de transición, en ausencia de influencias externas, dos fases pueden coexistir en equilibrio indefinidamente. En el caso de transiciones que impliquen dos fases con simetrías internas diferentes (como sólido-líquido o líquido-gas) la curva de coexistencia que representa el equilibrio entre las dos fases va hacia el infinito o termina por intersección con curvas de coexistencia de otras fases (Susaeta, 2003).

En caso del equilibrio líquido-gas esto no ocurre y la curva de presión de vapor se interrumpe bruscamente en un punto denominado punto crítico. De esta forma se puede definir el punto crítico como el punto del diagrama de fases determinado por una temperatura crítica (T_c) y por una presión crítica (P_c) a partir de la cual por mucho que se aumente la presión no se origina licuefacción y tampoco se forma un gas al aumentar la temperatura. Por encima del punto crítico, las fases líquida y gaseosa son idénticas e indistinguibles, esta fase tiene la alta densidad de un líquido, pero la baja viscosidad de un gas y se conoce como un fluido supercrítico (FSC) (Petrucci y Herwood, 1997). Las moléculas de los fluidos supercríticos son mucho más próximos que en los gases ordinarios y ejercen fuertes fuerzas de atracción sobre las moléculas de un líquido o sólido soluto.

El CO_2 es el FSC más utilizado debido a que es: no tóxico, no inflamable, no corrosivo, incoloro, no es costoso, se elimina fácilmente y no deja residuos. Además sus condiciones críticas son relativamente fáciles de alcanzar y se consigue con diferentes grados de pureza, se puede trabajar a baja temperatura y por tanto, se pueden separar compuestos termolábiles, se puede obtener a partir de procesos de fermentación alcohólica y ayuda a prevenir la degradación térmica de ciertos componentes químicos del alimento cuando son extraídos (Velasco *et al.*, 2007).

1.9.4.1 Proceso de extracción con fluidos supercríticos

La extracción con fluidos supercríticos puede ser realizada en dos modos de operación: extracción selectiva o separación selectiva. La primera envuelve la capacidad de solvatación del fluido utilizado en la extracción por medio de la manipulación de las condiciones de temperatura y presión y/o modificando la naturaleza química del solvente con la adición de un co-solvente. En el segundo método de operación, una separación selectiva se obtiene por medio de la despresurización o de un calentamiento o



enfriamiento gradual del sustrato, permitiendo con esto un fraccionamiento controlado de los productos por extraer. El proceso de extracción mediante fluidos supercríticos cuenta con cuatro etapas básicas indispensables que se muestran en la Figura 10 (Esquivel, 2007):



Figura 10. Proceso de extracción con Fluidos Supercríticos (FSC)

Fuente: Elaborado a partir de Esquivel (2007).

- **Etapa de presurización:** se inicia cargando el material por extraer en el recipiente de extracción; una vez que este se encuentre listo, se procede a presurizar el solvente que en la mayoría de los casos es CO_2 a una presión por encima de los 7,38 MPa (la presión por utilizar depende del compuesto por extraer), por medio de un compresor o de una bomba.
- **Etapa de ajuste de temperatura:** remoción o adición de energía térmica ya sea con un intercambiador de calor, baños térmicos o resistencias eléctricas, para llevar el fluido comprimido a la temperatura de extracción requerida.
- **Etapa de extracción:** es llevada a cabo en un recipiente extractor a alta presión, al tener el solvente como FSC, este se pone en contacto con el soluto o matriz que posee el compuesto que se quiere extraer.
- **Etapa de separación:** la separación del compuesto extraído del solvente se puede lograr mediante cambios en la temperatura o presión, generando de esta manera que el compuesto extraído pierda su solubilidad en el solvente y se separe; otro método de separación del compuesto extraído es lavar el solvente



para separar el compuesto de interés. En la Figura 11 se muestra el diagrama de un equipo de extracción con fluidos supercríticos.

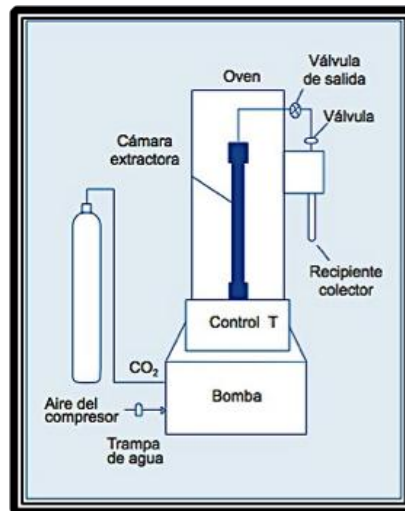


Figura 11. Unidad de extracción con FSC

Fuente: Esquivel (2007)

1.9.4.2 Variables durante el proceso de extracción con FSC

En este tipo de extracción, es muy importante controlar los parámetros de presión, temperatura y flujo del solvente, ya que son los que van a determinar cual es el compuesto que se va a extraer, al modificar estos parámetros, se modifica la selectividad del solvente. Las variables experimentales que afectan a la eficiencia de la extracción de fluidos supercríticos son (Esquivel, 2007):

- **Características del fluido:** como naturaleza, presión, temperatura, presencia y concentración de modificador, volumen total de fluido extractivo.
- **Características del soluto:** tipo de analito, concentración.
- **Características del sólido:** tamaño de muestra, tamaño de partícula, naturaleza de matriz (polaridad y formación de enlaces covalentes con el analito), presencia de otras sustancias extraíbles, condiciones de la muestra (humedad, pH, etc.), fenómenos de encapsulamiento.
- **Factores dinámicos:** tiempo de extracción, caudal del fluido extractarte, célula de extracción (tamaño, geometría).
- **Tratamientos previos de la muestra:** adición de líquidos, disolventes, reactivos derivatizadores, ácidos, adición de sólidos.



1.9.4.3 Ventajas y desventajas del uso de FSC

La extracción con FSC, específicamente con CO₂, resulta una alternativa interesante para la extracción y fraccionamiento de aceites vegetales, porque no posee los inconvenientes de los disolventes orgánicos tradicionales, algunas de estos se mencionan a continuación (Botha y McCrindle, 2011; Del Valle *et al.*, 2003a; Gallego, 2004; King y Bott, 1993; Rodríguez *et al.*, 2008; Velasco *et al.*, 2007):

- Seguros biológicamente, por lo que no se genera contaminación en el proceso.
- No son tóxicos, no inflamable en las cantidades utilizadas.
- Hay gran disponibilidad de ellos, de bajo costo en grados de pureza elevada.
- No son necesarios procesos de limpieza subsecuentes.
- Se separan fácilmente del producto que se quiere extraer.
- El oxígeno puede ser liberado fácilmente de la matriz del producto para evitar oxidaciones de los compuestos.
- Tiene un mayor coeficiente de difusión y una menor viscosidad que los líquidos.
- La ausencia de tensión superficial permite una rápida penetración en los poros de matrices heterogéneas, lo que incrementa la eficiencia.
- La selectividad puede ser manipulada durante la extracción, variando los parámetros de presión y temperatura ya que esto afecta la solubilidad de los compuestos.
- El solvente puede ser reciclado de una parte del proceso y ser utilizado nuevamente.

Debido a estas razones, se está popularizando el uso de estos compuestos, pero, a pesar de todas las ventajas enumeradas anteriormente, también presentan algunas desventajas, como son (Esquivel, 2007; Del Valle *et al.*, 2003a; Gallego, 2004; King y Bott, 1993; Rodríguez *et al.*, 2008; Velasco *et al.*, 2007):

- El equilibrio de fases entre el soluto y el solvente puede ser muy complejo.
- Disuelve pocos compuestos no polares.
- El uso de co-solventes puede alterar la polaridad del CO₂, pero a la vez estos co-solventes pueden quedar en el extracto, requiriendo una operación de separación posterior.
- Las altas presiones dificultan la adición continua de sólidos al extracto.
- Los costos de operación son elevados.



1.9.4.4 Aplicaciones agroindustriales

Algunas aplicaciones comerciales de la extracción con los FSC en la agroindustria son: el fraccionamiento y la extracción de aceites y grasas, la extracción de antioxidantes naturales, la extracción de alcaloides, aromas y especias.

Las aplicaciones de los FSC en esta área se relacionan básicamente con el uso de dióxido de carbono (CO₂) por las ventajas ya mencionadas y dirigidas hacia la obtención de aceites vegetales a partir de oleaginosas, desacidificación de aceites con alto contenido de ácidos grasos, eliminación de colesterol, aprovechamiento de residuos de la refinación y obtención de compuestos minoritarios de alto valor agregado como son el escualeno, los tocoferoles y los fitosteroles (Velasco *et al.*, 2007). El fraccionamiento de aceites resulta de gran interés debido a que permite obtener un aceite o grasa natural ajustado a unas especificaciones muy particulares o una fracción con determinados componentes de interés para fines concretos (Hurtado, 2002).

El Cuadro 8, muestra algunos de los productos extraídos (aceite, ácidos grasos y triglicéridos) de materias primas vegetales propuestas por varios trabajos de investigación.

Cuadro 8. Aceites y lípidos extraídos con CO₂ Supercrítico

Materia Prima	Principio Activo	Condiciones de Extracción		Referencias
		T (°C)	P (Bar)	
Lúpulo (<i>Humulus lupulus</i> L.)	Ácidos- alfa	40 – 60	120 - 280	Del Valle <i>et al.</i> (2003b)
Nuez Moscada (<i>Myristica fragans</i> H.)	Aceite	23	90	Spricigo <i>et al.</i> (2001)
Hinojo (<i>Foeniculum vulgare</i> M.)	Aceite	40 – 50	200 - 900	Reverchon <i>et al.</i> (1999)
Avellana	Triglicéridos	40 - 60	300 - 600	Özkal <i>et al.</i> (2005)
Hinojo	Aceite	40	300	Moura <i>et al.</i> (2005)
Salvado de Arroz	Triglicéridos			
	Ácidos grasos libres	50 - 60	100 - 400	Danielskiet <i>al.</i> (2005)
Pimienta	Triglicéridos	35 - 65	220 - 500	Del Valle <i>et al.</i> (2003a)
Cacao	Triglicéridos	70	200 - 400	Saldaña <i>et al.</i> (2002)
Pimienta	Triglicéridos	40	120 - 200	Del Valle <i>et al.</i> (2003c)



1.9.5 Extracción Asistida por Ultrasonido (UAE)

El ultrasonido de alta intensidad también conocida como sonicación se utiliza como un método alternativo de bajo costo, reproducible, simple y eficiente de relevancia industrial para mejorar el proceso de extracción de compuestos bioactivos. Las deficiencias de las tecnologías de extracción existentes, al igual que aumentar el consumo de energía (más del 70% del proceso total requiere energía) y un mayor consumo de productos químicos nocivos, han obligado a las industrias alimentaria y química a encontrar nuevas técnicas de separación "verde" que suelen utilizar menos solvente y energía, como la extracción por microondas, extracción con FSC, UAE, ultrafiltración, la destilación flash, entre otras (Cabredo *et al.*, 2006; Chemat *et al.*, 2011; Lazic´ *et al.*, 2007).

Lo que hace que la UAE (por sus siglas en inglés, ultrasoun assisted extraction), sea una potencial tecnología emergente es que puede acelerar la transferencia de calor y masa, y ha sido sucesivamente utilizado en el campo de la extracción. Las ondas de ultrasonido después de la interacción con material vegetal alteran sus propiedades físicas y químicas y su efecto cavitacional facilita la liberación de compuestos extraíbles y mejora el transporte de masa mediante la ruptura de las paredes celulares de las plantas (Chemat *et al.*, 2011).

El ultrasonido son ondas mecánicas que requieren un medio elástico para tener una mayor difusión. La diferencia entre el sonido y el ultrasonido es la frecuencia de la onda, las ondas sonoras se encuentran en la frecuencia de la audibilidad humana (de 16 Hz hasta 20 kHz), mientras que las ondas de ultrasonido tienen frecuencias por encima de esta, pero por debajo de las frecuencias de microondas (de 20 kHz a 10 MHz) (Suslick, 1989; Cleaning Technologies Group, 2011).

1.9.5.1 Mecanismo de extracción

Las ondas de ultrasonido, al igual que todas las ondas de sonido, se componen de ciclos de compresión y expansión (rarefacción). Los ciclos de compresión son regiones densas en las que un número de moléculas se agrupan acercándose mucho entre sí, ejerciendo una presión positiva sobre el líquido; los ciclos de expansión (regiones que tienen relativamente pocas moléculas, corresponde a zonas de baja presión) ejercen una presión negativa, creando distancia entre las moléculas (Figura 12) (Li *et al.*, 2004; Suslick, 1989).

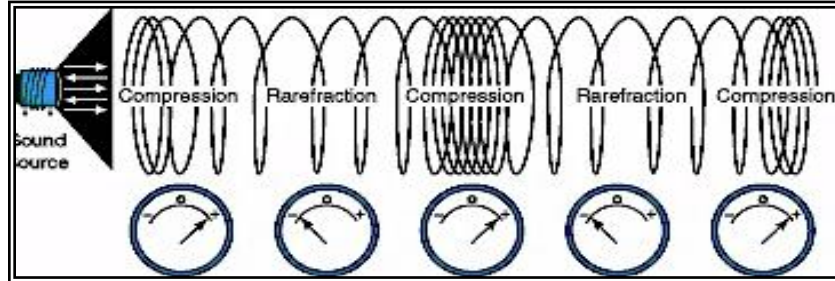


Figura 12. Diagrama de la naturaleza de una onda de sonido

Fuente: Cleaning Technologies Group (2011).

Cada medio tiene una distancia molecular crítica, por debajo de este valor crítico, el líquido permanece intacto, pero por encima de esta distancia generando huecos o vacíos. En el caso del ultrasonido, si el ciclo de expansión es lo suficientemente fuerte, la distancia (d) entre las moléculas contiguas puede alcanzar o incluso superar la distancia crítica molecular del líquido generándose huecos, fenómeno conocido como “cavitación” (Chemat *et al.*, 2011).

En los vacíos creados en el medio se encuentran las burbujas de cavitación que son responsables del efecto ultrasónico. De hecho estas burbujas de la cavitación son capaces de crecer durante las fases de expansión y disminuir de tamaño durante el ciclo de compresión. Cuando el tamaño de estas burbujas alcanza un punto crítico colapsan durante el ciclo de compresión y ocurre una liberación de grandes cantidades de energía. La temperatura y la presión en el momento del colapso se ha estimado de hasta 5 000 K y 2 000 atmósferas en un baño ultrasónico (Figura 13) (Sorian y Villamiel, 2010; Suslick, 1989; Mason *et al.*, 1996).

Esto crea puntos que son capaces de acelerar dramáticamente la reactividad química en el medio. Cuando estas burbujas colapsan en la superficie de un material sólido, la alta presión y temperatura liberada generan microchorros dirigidos hacia la superficie sólida (Vilkhu *et al.*, 2008; Chemat *et al.*, 2011; Sorian y Villamiel, 2010; Vinatoru, 2001). Estos microchorros son responsables del efecto desengrasante de los ultrasonidos en las superficies metálicas que es ampliamente utilizado para la limpieza de los materiales.

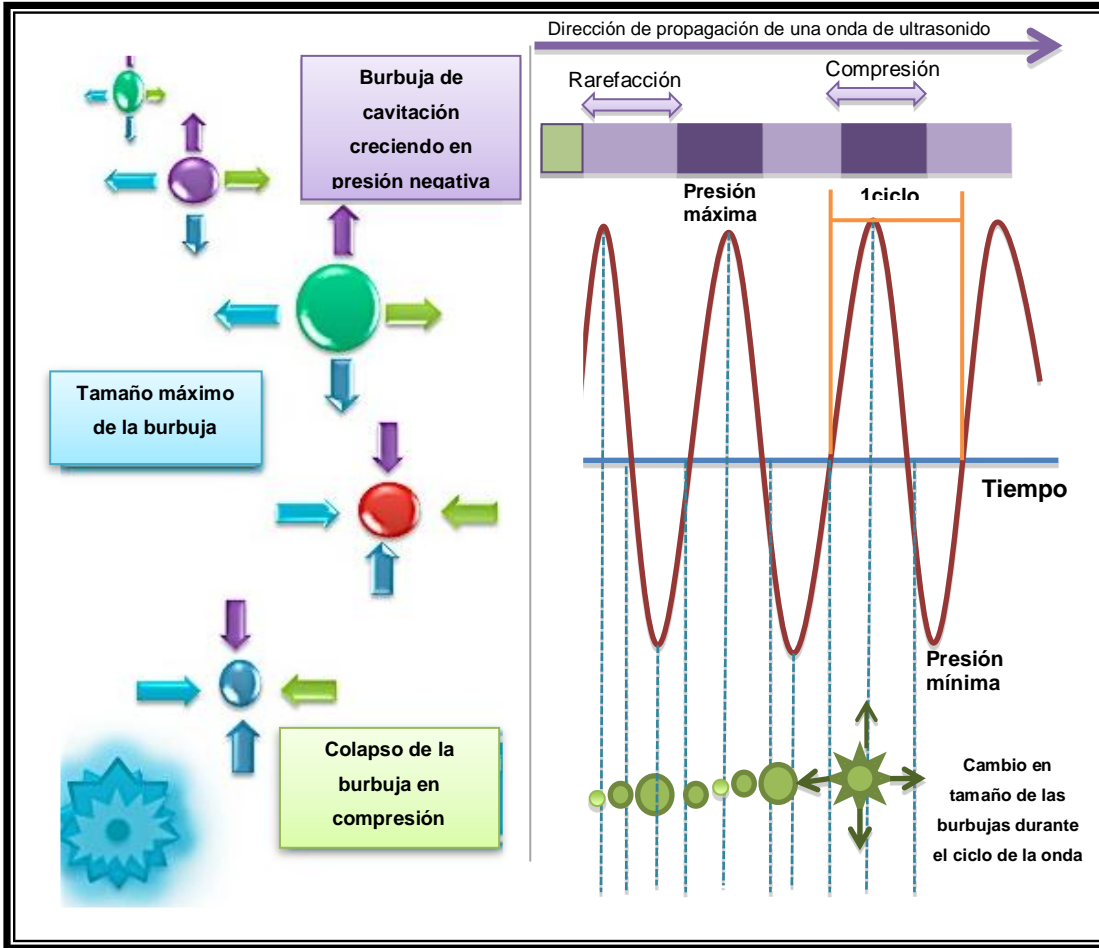


Figura 13. Proceso de cavitación de una burbuja por ultrasonido

Fuente: Elaborado a partir de Sorian y Villamiel (2010); Cleaning Technologies Group (2011)

Como se muestra en la Figura 14, una burbuja de cavitación se puede generar cerca de la superficie del material vegetal (a) a continuación, durante un ciclo de compresión, esta burbuja colapsa (b) y un microchorro dirigido hacia la planta matriz se crea (b y c). La alta presión y temperatura que participan en este proceso destruye las paredes celulares de la planta matriz y su contenido puede ser puesto en libertad en el medio (d) (Chemat *et al.*, 2011).

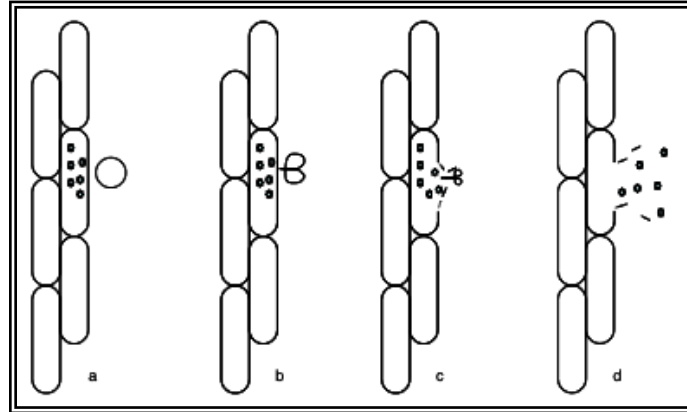


Figura 14. Mecanismo de cavitación en una superficie sólida

Fuente: Chemat *et al.* (2011)

1.9.5.2 Equipo ultrasónico

Existen dos tipos diferentes de equipos de ultrasonido que se utilizan comúnmente en el laboratorio. El primero es el baño de limpieza por ultrasonido que se utiliza comúnmente para una dispersión sólida en disolvente (el ultrasonido reducirá dramáticamente el tamaño del sólido lo que aumentará su solubilidad), para la desgasificación de soluciones o incluso para la limpieza de material pequeño por inmersión del objeto en el baño. Los ultrasonidos son menos utilizados para las reacciones químicas, incluso si son fáciles de manejar y económicamente ventajoso porque la reproducibilidad de la reacción es bajo. De hecho, la intensidad deliberada es baja y es muy atenuada por el agua contenida en el baño y en las paredes del recipiente de vidrio utilizado para el experimento (Chemat *et al.*, 2011).

El segundo equipo de ultrasonido, es más potente porque la intensidad de ultrasonidos se delibera en una superficie pequeña (sólo la punta de la sonda) en comparación con el baño de ultrasonido. Otro cambio es que la sonda se sumerge directamente en el matraz de reacción. Este sistema de sonda se utiliza ampliamente para sonicación de pequeños volúmenes de muestra, pero hay que tener cuidado especial por el aumento rápido de la temperatura en la muestra (Chemat *et al.*, 2011).

1.9.5.3 Aplicaciones del método UAE

La aplicación de la UAE en el procesamiento de alimentos es extremadamente interesante, ya que permite un aumento en el rendimiento de extracción y la velocidad lleva a una reducción significativa en el tiempo de extracción y un rendimiento superior. Es



posible aplicar la extracción asistida por ultrasonido para facilitar la extracción acuosa y también en los casos en la que los disolventes orgánicos pueden ser remplazados con disolventes reconocidos como seguros (GRAS), que puedan proporcionar beneficios económicos, ambientales, así como beneficios para la salud y la seguridad. En el Cuadro 9 se presentan algunas de las aplicaciones realizadas en el campo de la industria de alimentos.

Cuadro 9. Aplicaciones de la UAE

Materia Prima	Principio Activo	Condiciones de Extracción	Referencias
Té	Compuestos aromáticos	Batch, 40 kHz, 40 min a 60 °C	Xia <i>et al.</i> (2006)
Vino	Compuestos volátiles	Batch, 40 kHz, 15 min a 25 °C	Cabredo-Pinillos <i>et al.</i> (2006)
Hojas de menta	Mentol	Reactor, 20 kHz, a 60 °C	Shotripuk <i>et al.</i> (2001)
Ajo	Aceite esencial	Batch, 35 kHz, 4-10 min a 25°C	Kimbaris <i>et al.</i> (2006)
Jitomate	Lycopeno	Batch, 40 kHz, 29 min a 86 °C	Moura <i>et al.</i> (2005)
Corteza de cítricos	Ácidos grasos libres	Batch, 60 kHz, 1h a 15 y 40°C	Chen <i>et al.</i> (2007)
Cáscara de coco	Compuestos fenólicos	Batch, 25 kHz, 15 min a 30 °C	Rodríguez <i>et al.</i> (2008)



OBJETIVOS





II. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Comparar los procesos de extracción de aceite en pulpa de aguacate variedad cv. 'Hass' por tres métodos; Soxhlet, fluido supercrítico y extracción asistida por ultrasonido, así como determinar su efecto en sus características físicas, químicas y fisicoquímicas.

OBJETIVOS PARTICULARES

1. Seleccionar el estado de madurez del aguacate variedad 'Hass' que permita obtener el mayor rendimiento de extracto etéreo.
2. Comparar tres métodos de extracción de aceite (Soxhlet, fluido supercrítico SC-CO₂ y extracción asistida por ultrasonido), sobre el rendimiento total obtenido a partir de harinas de pulpa de aguacate variedad 'Hass'.
3. Evaluar los parámetros de identidad y calidad de los aceites obtenidos por los tres métodos de extracción, Soxhlet, fluido supercrítico SC-CO₂ y extracción asistida por ultrasonido para establecer el método que permita la obtención de un producto con la mejor calidad.



METODOLOGÍA EXPERIMENTAL





III. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

3.1 Cuadro metodológico

En la Figura 15 se muestra la metodología experimental llevada a cabo en el presente trabajo.

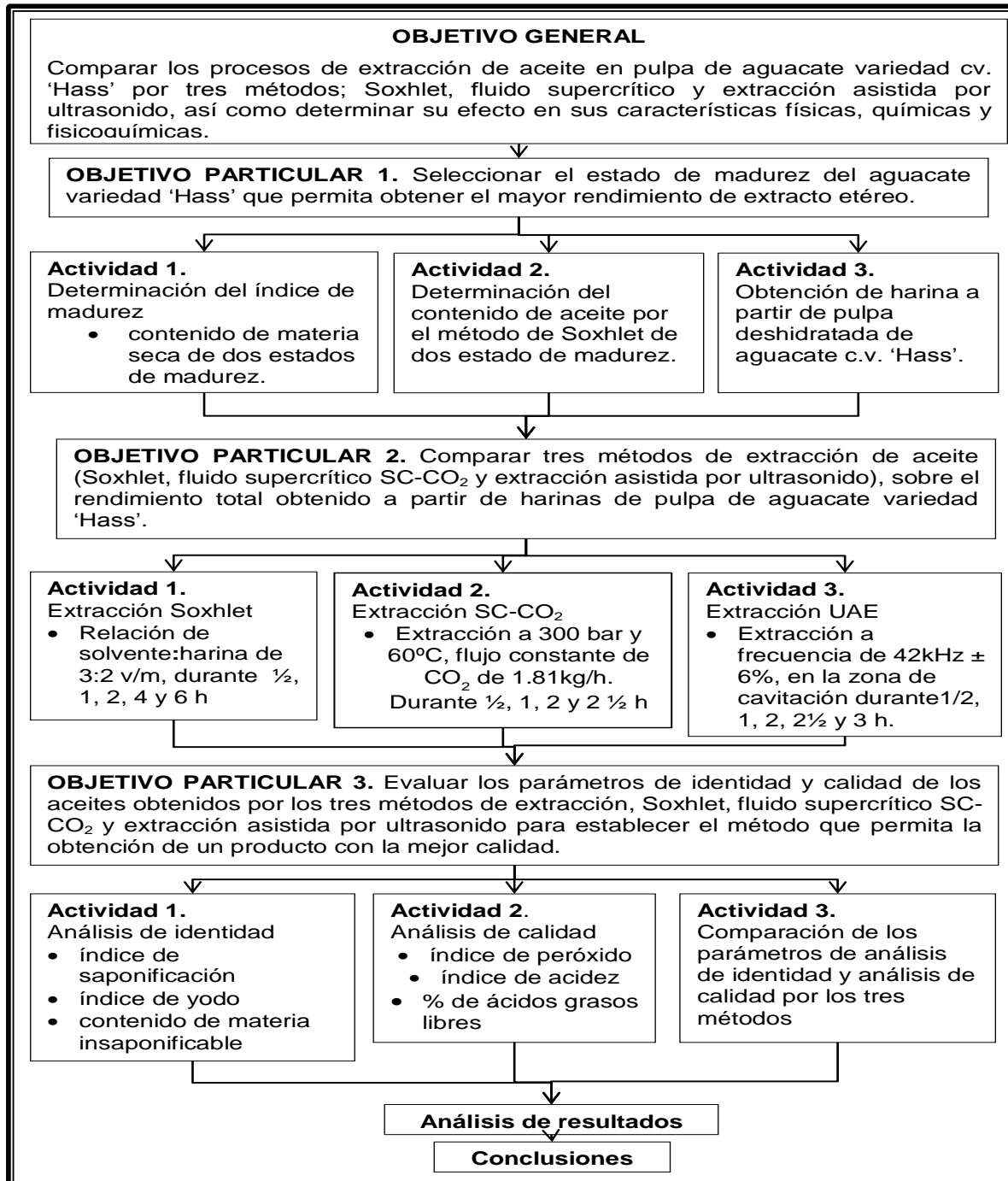


Figura 15. Cuadro metodológico



3.2 Material biológico

Los aguacates (*Persea americana Mill*) variedad 'Hass' se adquirieron en la Central de Abastos del Distrito Federal, provenientes del estado de Michoacán, fueron llevados al Laboratorio de Postcosecha de Productos Vegetales del Centro de Asimilación Tecnológica de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM, donde se acondicionaron para su posterior tratamiento.

3.3 Tratamiento de las muestras

Los frutos se distribuyeron en 2 lotes de acuerdo al estado de madurez; fisiológica y comercial y se seleccionaron con base en color, consistencia firme, y sin evidencia de daños mecánicos por insectos o enfermedades y con el mismo grado de desarrollo.

3.4 Selección del estado de madurez de aguacate 'Hass'

3.4.1 Determinación del índice de madurez

El porcentaje de materia seca tiene un alto grado de correlación con el contenido de aceite y se usa como índice de madurez en la mayoría de las áreas productoras de aguacate. El contenido de materia seca se determinó de acuerdo a la técnica descrita en el apartado 3.13.1.

3.5 Extracción de aceite de aguacate variedad 'Hass' de dos estados de madurez

La extracción lipídica de aguacate se realizó en lotes de dos estados de madurez (comercial y fisiológica), por el método de extracción Soxhlet. Éter de petróleo (60 a 80 °C) se utilizó como solvente durante 4 horas de calentamiento a reflujo, posteriormente se evaporó suavemente y el aceite en el matraz se secó a 100°C en una estufa hasta peso constante. La ecuación de Parodi *et al.* (2007) (Ecuación 1), se utilizó para estimar el contenido de aceite en función del contenido de materia seca. Los valores obtenidos experimentalmente de materia seca se sustituyeron en la ecuación 1 y los resultados se compararon con los obtenidos de porcentaje de aceite por el método de Soxhlet.

$$y = 0.9908x - 10.43$$
$$r^2 = 0.9183 \quad (1)$$

Donde;

y: contenido de aceite en %

x: contenido de materia seca en %



3.6 Obtención de harina a partir de pulpa deshidratada de aguacate 'Hass'

En la Figura 16 se presenta el diagrama de proceso para la obtención de pulpa deshidratada en polvo.

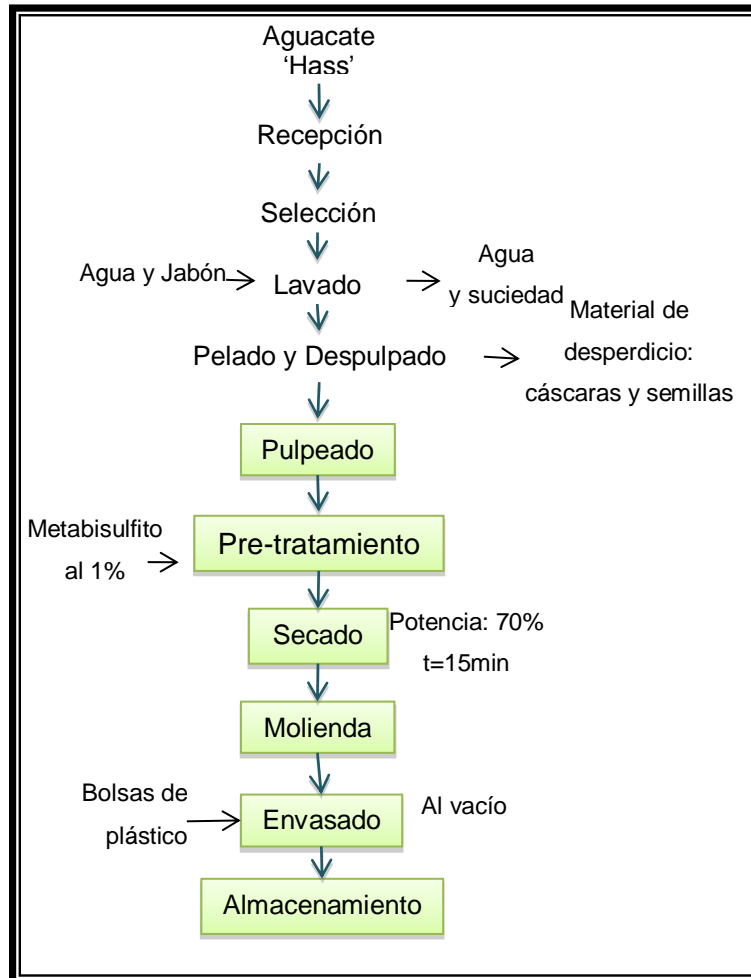


Figura 16. Diagrama de proceso para la obtención de pulpa de aguacate deshidratada en polvo

-Recepción y selección: Los frutos se seleccionaron con base en color, consistencia firme, y sin evidencia de daños mecánicos por insectos o enfermedades y con el mismo grado de desarrollo.

-Lavado: Los aguacates seleccionados se lavaron con agua potable y jabón con el fin de eliminar la materia extraña que acompañaba a la fruta.



-Pelado y despulpado: Se procedió hacer un corte longitudinal y se separó la pulpa de la cáscara y la semilla, los frutos fueron pelados, la pulpa obtenida se homogenizó y se hizo un puré.

-Pretratamiento: Se agregó metabisulfito de sodio al 1% (w/w) en polvo al puré de aguacate para evitar el oscurecimiento enzimático.

-Secado de pulpa: El puré de aguacate obtenido se colocó en papel encerado y se secó en un horno de microondas (marca LG, modelo MS-214YEL), con una potencia del 70% durante 15 min en periodos de 5 min y descansos de 3 min entre cada periodo.

-Molienda y tamizado de la pulpa: La pulpa deshidratada se molió en un molino para café de una sola cuchilla (marca SCROPUS), la harina obtenida se tamizó en un tamiz de malla No. 20, (marca Montinox®) con tamaño de partícula 0.841 mm.

-Envasado: La harina tamizada se envasó al vacío en bolsas plásticas en una FoodSaver (marca Oster®, modelo Vac550).

-Almacenamiento: Se almacenaron en un lugar fresco y con ausencia de luz las bolsas de harina de pulpa de aguacate, hasta que fueron utilizadas para la extracción con CO₂, extracción asistida por ultrasonido y extracción con Soxhlet.

3.7 Caracterización física y química de la harina obtenida de pulpa de aguacate

La harina obtenida de la pulpa de aguacate, se le determinaron sus características físicas como color y olor y sus características químicas: proteína, grasa, fibra, azúcares reductores totales, almidón, fenoles, cenizas y humedad, de acuerdo a las técnicas descritas en el apartado 3.13.1.

3.8 Extracción del aceite por el método de Soxhlet (SX)

El equipo Soxhlet (Figura 16) se colocó utilizando una relación de solvente:harina de 3:2 (v/m), se realizaron pruebas en diferentes tiempos (½, 1, 2, 4 y 6 h) de extracción con reflujos constante para determinar cuál era el tiempo óptimo, calculando el rendimiento en cada uno de ellos.



Figura 17. Extractor Soxhlet

3.9 Extracción del aceite por dióxido de carbono supercrítico (SC-CO₂)

La extracción se realizó con SC-CO₂ en un extractor de alta presión SFT-250 SFE/SFR (Supercritical Fluid Technology, Inc., Newark, Del., USA) (Figura 18), utilizando un vaso de extracción de 500 mL. Se pesaron 60 g de harina en el vaso de extracción, se programó el equipo a una presión 300 bar y temperatura de 60°C. La extracción se realizó de forma dinámica o continua, en donde, una vez alcanzada la temperatura, se bombeó CO₂ al vaso de extracción mediante una bomba de pistones (Haskel) hasta el valor de presión correspondiente, después se abrió la válvula de restricción. A partir de este momento se contó el tiempo de extracción, se tomaron muestras a: ½, 1, 2 y 2 ½ horas, manteniendo las válvulas de entrada y de salida del extractor abiertas durante todo el período de extracción. La extracción se realizó a un flujo constante de CO₂ de 1.81 kg / h. La tasa de flujo de CO₂ se estimó mediante el control de la diferencia de peso del tanque de CO₂ a un tiempo de extracción dado. El aceite extraído se cuantificó gravimétricamente en una balanza de precisión.



Figura 18. Extractor SFT-250 SFE/SFR

(Supercritical Fluid Technology, Inc., Newark, Del., USA)

3.10 Extracción del aceite asistida por ultrasonido (UAE)

Una solución al 20% de harina se preparó en hexano (Álvarez, 2004) en matraces de 250 mL. Los matraces se colocaron dentro de un baño de ultrasonido (marca Cole-Parmer, modelo 8891) a frecuencia de $42 \text{ kHz} \pm 6\%$, en la zona de cavitación durante $\frac{1}{2}$, 1, 2, $2\frac{1}{2}$ y 3 h (Figura 19). Las muestras se filtraron y se eliminó el hexano por evaporación. Los rendimientos se calcularon para cada tiempo de extracción.



Figura 19. Baño de ultrasonido



Los aceites obtenidos se almacenaron en viales ámbar bajo atmósfera de nitrógeno, en una cámara de refrigeración (aprox. 4°C).

3.11 Análisis de la identidad de los aceites obtenidos

A los aceites obtenidos por cada método se les realizó un análisis de identidad, con el fin de establecer sus características fisicoquímicas, se evaluaron el índice de yodo, índice de saponificación y materia insaponificable de acuerdo a las técnicas que se detallan en el apartado 3.13.2.

3.12 Análisis de calidad de los aceites obtenidos

El análisis de calidad concierne al grado de deterioro del aceite debido al manejo de las muestras durante la extracción (Álvarez, 2004). Los parámetros que se evaluaron son: acidez titulable, % ácidos grasos libres e índice de peróxido de acuerdo a las técnicas descritas en el apartado 3.13.3.

3.13 Métodos analíticos

3.13.1 Parámetros químicos

Humedad

Este método rápido por termobalanza se basa en evaporar de manera continua la humedad de la muestra. La humedad es tomada como la pérdida de peso al secado, usando un instrumento de humedad, el cual emplea una balanza de torsión sensible para pasar la muestra y una lámpara infrarroja para secar la muestra hasta que se situó a peso constante (NMX-F-428-1982). Los resultados se expresaron en g/100g de muestra.

Determinación de materia seca

El porcentaje de materia seca se determinó como la diferencia de peso húmedo y seco de los frutos de aguacate, de dos estados de madurez (fisiológica y comercial). Se utilizaron cápsulas de aluminio y se colocaron $5\text{g} \pm 0.0001\text{ g}$ de muestra tomadas con un pelador, se secaron en una estufa con circulación de aire a $100^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$, hasta llegar a peso constante. Asimismo, se aplicó la ecuación de Parodi *et al.* (2007) a los datos obtenidos para estimar el contenido de aceite en función del contenido de materia seca. Los resultados se expresaron en porcentaje.



Grasa

El contenido de grasa se determinó por el método de Soxhlet, la grasa se extrae de la muestra, por arrastre con éter de petróleo a partir del residuo desecado. En este método el disolvente se calentó, se volatilizó y condensó goteando sobre la muestra la cual quedaba sumergida en el disolvente. Posteriormente éste fue sifonado al matraz de calentamiento para empezar de nuevo el proceso. El contenido de grasa se cuantificó por diferencia de peso, expresando los resultados en porcentaje (AOAC, 1980).

Proteína

El contenido de proteína presente en las harinas se determinó por el método de Lowry *et al.*, (1951) es un método colorimétrico de valoración cuantitativa de las proteínas. Donde las proteínas reaccionan con el cobre en solución alcalina y mediante la reducción del reactivo Folin-Ciocalteu (ácido fosfomolibdicofosfotúngstico), a heteropolibdeno azul por la oxidación de aminoácidos aromáticos que es catalizado por el cobre. Los valores de concentración de proteína se determinaron por interpolación gráfica de la curva patrón de albúmina obtenida a una longitud de onda de 720 nm. Los resultados se expresaron en g/100 g de muestra.

Fibra cruda

El contenido de fibra cruda se determinó por el método de Wendee, se fundamenta en la obtención de fibra cruda por medio de una hidrólisis en medio ácido y en medio alcalino de la muestra menos el contenido de cenizas presentes en la muestra, expresándose los resultados en g/100g de muestra (AOAC, 1980).

Cenizas totales

Las cenizas totales se determinaron por el método de Klemm el cual se basa en la descomposición de la materia orgánica quedando solamente materia inorgánica en la muestra, es eficiente ya que determina tanto cenizas solubles en agua, insolubles y solubles en medio ácido. En este método toda la materia orgánica se oxida en ausencia de flama a una temperatura que fluctúa entre los 550-600 °C; el material inorgánico que no se volatiliza a esta temperatura se conoce como ceniza (AOAC, 1980). Los resultados se expresaron en g/100 g de muestra.



Azúcares reductores totales

El contenido de azúcares reductores se determinó por el método colorimétrico de ácido Dinitrosalicílico (DNS) modificado, el cual en disolución alcalina el azúcar se hidroliza produciendo un compuesto que se reduce a un grupo nitro del DNS, para dar el producto mono amino correspondiente. Esta reacción da un producto colorido en solución alcalina. (Miller, 1959). Los resultados se expresaron en g/100 g de muestra.

Fenoles totales

El contenido de fenoles totales se determinó utilizando el reactivo de Folin-Ciocalteu por el método sugerido por Slinkard y Singlanton, (1977). Se pesaron 200 mg de muestra extrayendo los fenoles con metanol. De los extractos obtenidos se tomó una alícuota de 10 μ L y posteriormente se agregó el reactivo de Folin-Ciocalteu leyendo en un espectrofotómetro (marca Genesys, modelo 10 UV) a una longitud de onda de 750 nm. El contenido de fenoles totales se calculó por interpolación gráfica de la curva patrón, expresándose como mg de ácido gálico/100 g de muestra.

3.13.2 Análisis de identidad

Índice de yodo

El método de Wijs fue utilizado para determinar el índice de yodo, el cual es la medida de la instauración de las grasas y aceites y se expresa en términos del número de g de yodo absorbido por gramo de muestra (por ciento de yodo absorbible). Este método se basa en la reacción del monoclورو de yodo en medio acético con los ácidos grasos, y en medir la cantidad de yodo que está presente en forma libre. En función de este se determina el grado de instauración del aceite (Kira, 1991). Los resultados se expresaron en g I_2 /g de aceite.

Índice de saponificación

El índice de saponificación se define como la cantidad de hidróxido de potasio expresado en miligramos, necesario para saponificar un gramo de aceite o grasa. Este método se basa en la reacción química de los triacilgliceroles o triglicéridos con un álcali, formándose jabones o sales alcalinas de los ácidos grasos y glicerina (Kira, 1991) (Figura 20). Los resultados se expresaron en mg KOH/g aceite.

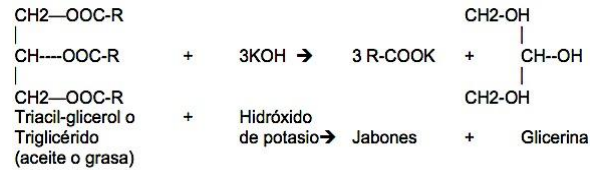


Figura 20. Reacción de Saponificación de un triglicérido

Materia insaponificable

La materia insaponificable incluye aquellas sustancias que se encuentran frecuentemente disueltas en grasas y aceites y las cuales no pueden ser saponificadas por el tratamiento cáustico normal, pero que son solubles en solventes de aceites y grasas. Incluidas en este grupo de compuestos están los alcoholes alifáticos de cadena larga, esteroides, pigmentos e hidrocarburos (NMX-K-306-SCFI-2006). Los resultados se expresaron en porcentaje.

3.13.3 Análisis de calidad

Índice de acidez

Es la cantidad en miligramos de hidróxido de potasio necesaria para neutralizar los ácidos grasos libres en 1.0 g de aceites o grasa. Este método se basa en la titulación de los ácidos grasos libres, con un álcali (AOAC, 1980; Kira, 1991). Los resultados se expresaron en mg KOH.

Índice de peróxidos

El valor o índice de peróxido indica los miliequivalentes de peróxidos por 1000 gramos de muestra, que oxidan al yoduro de potasio bajo las condiciones establecidas en el método. Este método determina todas las sustancias, en términos de peróxidos, existentes en la solución de la muestra en los solventes indicados en el método (Kira, 1991). Los resultados se expresaron en meq peróxido/kg aceite.

3.14 Análisis estadístico

Para establecer el efecto por el estado de madurez de los aguacates en el rendimiento de extracción de aceite, se aplicó un análisis de varianza simple (ANOVA) y pruebas de rango múltiple (Tukey y Duncan) con una $p \leq 0.05$.

La prueba T-student para una muestra es utilizada para contrastar si la media poblacional difiere significativamente de un valor dado, en este caso se realizó, con la finalidad de



contrastar si la media del contenido de extracto etéreo para cada estado de madurez difería significativamente de los valores predichos por la ecuación de Parodi *et al.* (2007). También se aplicó a los datos obtenidos por el análisis químico proximal de la harina, para contrastar las medias obtenidas de la literatura y los valores experimentales ($p \leq 0.05$).

Un análisis factorial 2^3 se aplicó para evaluar los rendimientos obtenidos por los métodos de Soxhlet y UAE a los diferentes tiempos de extracción, también se realizó una comparación entre métodos por pruebas de rango múltiple de Tukey. Por otro lado, los datos de las determinaciones del análisis de identidad y calidad fueron analizados mediante análisis de varianza simple (ANOVA) y pruebas de rango múltiple (Tukey) con una $p \leq 0.05$ para establecer si existía diferencia significativa entre los métodos de extracción empleados. Para estos análisis se utilizó el programa estadístico SPSS (Statistical Package for the Social Sciences versión 16.0, Student).



RESULTADOS Y DISCUSIÓN





IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Rendimientos de los frutos de aguacate

La caracterización se realizó a frutos de aguacate variedad 'Hass' (*Persea americana* Mill), provenientes del estado de Michoacán. En la Figura 21 se presenta la distribución de las fracciones morfológicas en términos porcentuales del peso total de la fruta de dos estados de madurez.

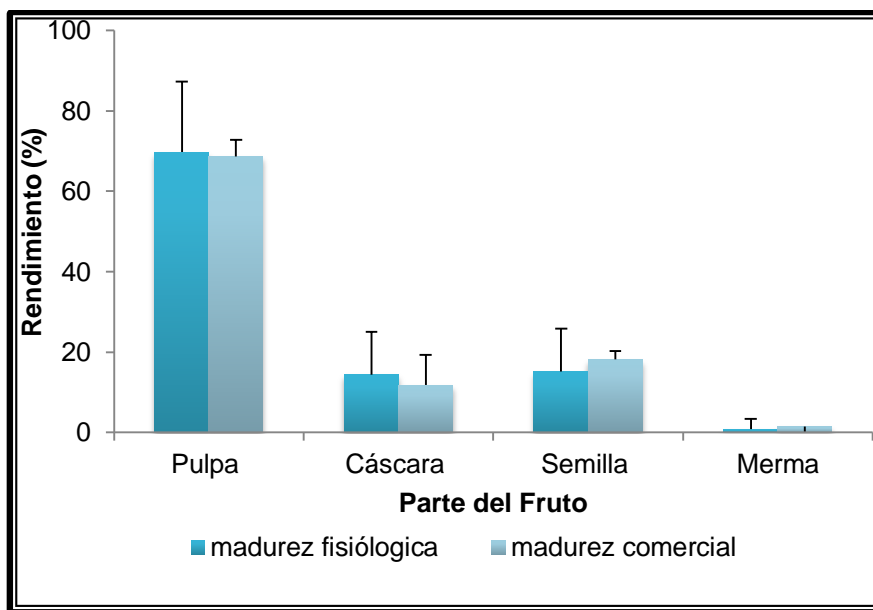


Figura 21. Distribución porcentual de las fracciones de aguacate 'Hass' en dos estados de madurez

Los frutos de aguacate variedad 'Hass' de madurez fisiológica y comercial en promedio presentaron un peso de 240.63 y 256.37 g respectivamente, según la Norma Mexicana para aguacate fresco NMX-FF-016-SCFI-2006, los frutos con peso de entre 211 y 265 g pertenecen al calibre extra y debido a que no presentaban ningún daño mecánico o defecto fisiológico, pertenecen a la calidad suprema. Belmar (1996), Saavedra (1995) y Esteban (1993), han publicado que el peso promedio del fruto de la variedad 'Hass' varía entre 200 y 300 g, rango en el que se encuentran los pesos obtenidos en el presente estudio.

En relación al porcentaje de pulpa, el aguacate en estado de madurez fisiológica presentó un porcentaje de 1.4% más que para el estado de madurez comercial. En general,



diversos autores señalan porcentajes de pulpa que fluctúan entre un 60 y 78% (Belmar, 1996; Saavedra, 1995; Gardiazábal y Rosenberg, 1991; Jaubert, 1970; Bressani, 2009), rango en el que se encuentran los frutos analizados.

El fruto de la variedad 'Hass' se destaca tanto por su excelente calidad organoléptica como por las características de éste, presentando entre otras cosas una semilla pequeña alcanzando entre un 10 a 15% de su peso (Parra, 2005). Tomando en cuenta esto, el aguacate en estado de madurez fisiológico se encuentra dentro de este rango con un 15.1%. Para un estudio en mejoramiento, se exige hasta un 15% de semilla, sin embargo si una variedad o selección presenta características muy excepcionales, se puede tolerar hasta un 18% de semilla dentro de este rango se encuentran los aguacates en estado de madurez comercial (Parra, 2005). Por esta razón la introducción del aguacate de la variedad 'Hass' a México ha sido tan exitoso.

4.2 Selección del estado de madurez de aguacate (*Persea americana* Mill) variedad 'Hass'

4.2.1 Contenido de materia seca

El contenido de materia seca para los frutos de aguacate variedad 'Hass' en dos estados de madurez se presentan en el Cuadro 10, donde se observa que el aguacate en madurez comercial o de consumo presenta 7% más materia seca que el estado de madurez fisiológica, esto se debe principalmente a que la tasa de incremento del aceite es igual a la tasa de disminución del agua durante el desarrollo de la fruta y como consecuencia un incremento en el peso seco del fruto (Swarts, 1976). Además que durante el manejo postcosecha y almacenamiento la fruta está sometida a la deshidratación (Kikuta y Erickson, 1968; Saavedra, 1995; Esteban, 1993; Martínez, 1984).

Cuadro 10. Contenido de materia seca para aguacate variedad 'Hass' de dos estados de madurez

Estado de madurez	Materia seca (%)
Madurez comercial	29.40±0.50 ^a
Madurez fisiológica	22.62±3.66 ^b

Los valores representan la media de tres determinaciones ± desviación estándar.

Los valores seguidos de diferente letra en cada fila difieren significativamente ($p \leq 0.05$).



Diversos autores han encontrado una estrecha correlación entre el contenido de aceite y el peso seco, Morris y O'Brien (1980) sugirieron estándares mínimos de madurez del 21% del peso seco para poder comercializar el aguacate en Australia. Lee *et al.* (1983) estudiaron el proceso de maduración de frutos de aguacate durante 5 años, ellos demostraron que el aumento gradual de peso seco (materia seca) durante la maduración de los frutos se debe principalmente al aumento en su contenido de aceite. Al mismo tiempo, demostraron que el nivel de aceptación por parte de un panel de degustación aumenta con el contenido de materia seca, (un sabor aceptable se produjo cuando el % de aceite promedio fue de 11.2 para la variedad 'Hass' y su peso seco equivalente fue de 22.8%).

Parodi *et al.* (2007), comprobaron que el contenido de aceite está en función del contenido de materia seca mostrando una alta correlación positiva, con valores de $r = 0.958$, es decir que a medida que ocurre un incremento en el contenido de materia seca en los frutos, también sucede un incremento del contenido de aceite. Por lo que, se infiere que los frutos en estado de madurez comercial poseen un mayor contenido de aceite, debido a su alto contenido de materia seca, observándose también que entre los dos estados de madurez hay diferencia significativa ($p \leq 0.05$).

4.2.2 Contenido de aceite en aguacates 'Hass' en dos estados de madurez

La extracción lipídica se realizó a los aguacates en dos estados de madurez (comercial y fisiológica), empleando el método de extracción Soxhlet, los resultados se compararon con los calculados con la ecuación de Parodi *et al.* (2007) para estimar el contenido de aceite en función del contenido de materia seca (Cuadro 11).

Cuadro 11. Contenido de aceite en aguacate 'Hass' en dos estados de madurez en base seca

Contenido de aceite (%)		
Estado de madurez	Experimental	Estimado por Ecuación Parodi
Madurez comercial	23.36 ± 4.51^{ab}	18.70 ^c
Madurez fisiológica	2.56 ± 0.57^{de}	11.98 ^{ef}

Los valores representan la media de tres determinaciones \pm desviación estándar.

Los valores seguidos de diferente letra en cada fila y columna difieren significativamente ($p \leq 0.05$).



Los rendimientos de aceite experimentales para ambos estados de madurez presentaron diferencias significativa ($p \leq 0.05$), con respecto a los valores estimados por la ecuación de Parodi *et al.* (2007), esto puede deberse principalmente a que el contenido de lípidos y la composición de los aguacates se ven afectadas por muchos factores como la localidad, por presentar diferencias de clima y suelo, la posición de la fruta en el árbol, sitio dentro de la fruta, madurez, las prácticas agrícolas y el manejo postcosecha (Requejo, 1999), ya que los frutos analizados por este autor pertenecen a la misma variedad pero diferente localidad.

Los frutos en estado de madurez comercial presentaron el mayor contenido de aceite, superando por aproximadamente el 100% al obtenido en el estado fisiológico, presentando diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre ellos. Los resultados muestran claramente que el contenido de aceite fue mayor en los aguacates en estado de madurez comercial, debido principalmente a que el estado de desarrollo del fruto, implica una variación del contenido de aceite junto a otros componentes esenciales, por lo que se decidió trabajar con este estado de madurez.

En general, los contenidos de aceite determinados se encuentran dentro de los rangos obtenidos en diversos estudios. Biale y Young (1971), señalan grandes variaciones de los contenidos de aceite en variedades de California que van desde el 8 hasta un 31.6%, rango en el que se encuentra el estado de madurez comercial. Jaubert (1970) obtuvo en distintas variedades de aguacate de América Central, contenidos de aceite (base peso fresco) que fluctuaron entre 2.8 y 20%, muy similar al obtenido por el estado de madurez fisiológica.

4.3 Caracterización física y química de la harina obtenida de la pulpa de aguacate

La harina de pulpa se obtuvo de los aguacates en estado de madurez comercial. La cual presentó un color verde intenso y un sabor muy marcado al fruto (Figura 22). La composición química de la harina se determinó con el fin de identificar sus componentes químicos mayoritarios y conocer los rendimientos de extracción de aceite en base seca.



Figura 22. Harina de pulpa deshidratada por microondas

En el Cuadro 12 se muestra la composición química de la pulpa de aguacate deshidrata variedad 'Hass', utilizada en el presente trabajo. La mayor parte comestible de la harina está constituida por materia grasa (61.3%), esto en forma de lípidos de almacenamiento debido a que, el 85% de este componente se encuentran en las células de grasa del mesocarpio (Kikuta y Erickson, 1968). También se apreció que la harina es una fuente potencial de almidón 13.6%, fibra 12.9%, cenizas 6.4% y proteína 2.7%, que da la posibilidad una vez extraído el aceite utilizar el subproducto obtenido como complemento alimenticio para animales (ganado, peces, etc.), aportando un importante nivel de carbohidratos, proteína y fibra. Igualmente se puede emplear como base para la elaboración de productos elaborados con harina de maíz y de trigo, proporcionando un alto porcentaje de almidón, fibra y elementos minerales como el calcio, hierro, magnesio y fósforo mejorando las propiedades nutricionales haciendo de esto un producto funcional (Bressani, 2009).

Bressani (2009), estudió la composición química de pulpa de aguacate liofilizada de la variedad 'Hass' en Guatemala e informó que la pulpa contenía 2.95% de humedad, 3.71% de proteína, 60.07% de grasa, 24.55% de fibra y 6.05% de cenizas, en base húmeda. Al comparar los resultados con pulpa liofilizada reportado por este autor no se encontraron diferencia significativa ($p \leq 0.05$) en los parámetros de proteína, grasa y cenizas, mientras



que sí se mostró diferencia en el contenido de fibra, esto posiblemente a que el contenido de agua es mayor en la pulpa que evaluó este autor.

Cuadro 12. Composición química de la harina de la pulpa de aguacate en base seca

Componente (%)	Pulpa deshidratada por microondas
Humedad	0.60 ± 00
Proteína	2.80 ± 5.07
Grasa	61.72 ± 2.42
Azúcares	2.29 ± 0.50
Almidón	13.72 ± 00
Fibra	12.99 ± 1.00
Carbohidratos totales	29.00
Cenizas	6.47 ± 0.20
Fenoles (mg catecol/100g)	25.31 ± 1.23

Los valores representan la media de tres determinaciones ± desviación estándar.

Las plantas producen compuestos con propiedades antimicrobianas que son empleadas para controlar diferentes enfermedades en productos hortofrutícola. Diversos productos derivados de las plantas han mostrado un efecto antimicrobiano; entre estos compuestos destacan los flavonoides, fenoles, terpenos, aceites esenciales, alcaloides, lecitinas y polipéptidos.

En el aguacate se han encontrado fenoles como el 4-metilcatecol, ácido clorogénico, catequina, dopamina y ácido cafeico (Rivas, 2010). A pesar del secado por microondas el contenido de fenoles en la harina fue de 25.31 mg de catecol/100g de muestra, este parámetro puede ser benéfico, ya que se ha observado que en aceite de aguacate extra virgen contiene niveles elevados de antioxidantes, en particular, fenoles y vitamina E, los cuales pueden ayudar a prevenir daños inducidos por la oxidación en el tejido corporal (Pérez, 2002).



4.4 Rendimientos de la extracción de aceite de aguacate

La extracción de aceite de la harina de la pulpa de aguacate se realizó por tres diferentes métodos; Soxhlet (SX), extracción asistida por ultrasonido (UAE) y extracción con CO₂ supercrítico (SC-CO₂). En la Figura 23 se muestran los rendimientos obtenidos por los diferentes métodos empleados.

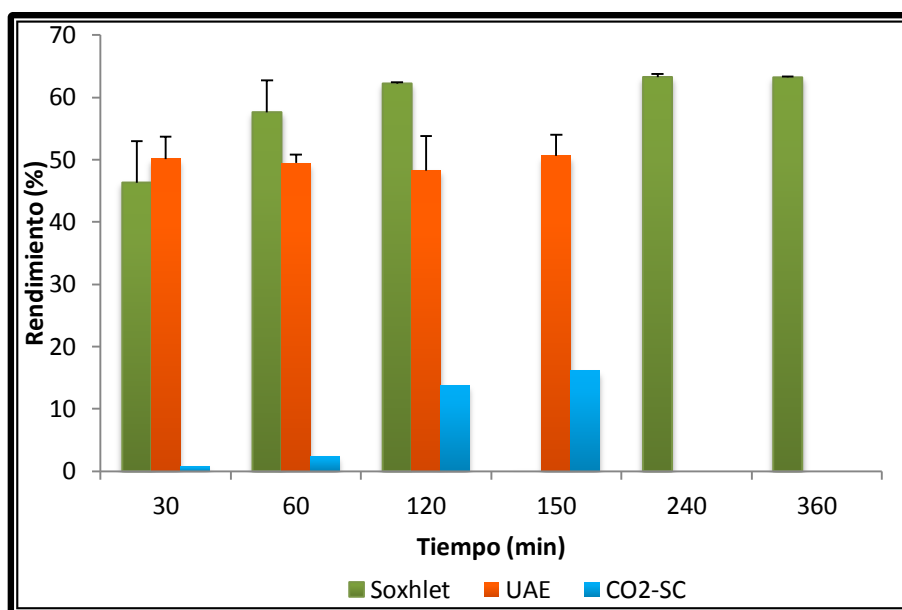


Figura 23. Rendimientos de aceite extraído por tres diferentes métodos

El método de SX presentó el mayor rendimiento (63%) con un tiempo de extracción de 2 horas, ya que a las 4 y 6 horas no hubo diferencia significativa ($p \leq 0.05$), por lo que se consideró esta condición la óptima para la extracción de aceite. Estos resultados fueron similares a los encontrados en otros trabajos a pesar de partir de materia prima de diferente naturaleza, ya que los mayores rendimientos de extracción se obtuvieron con el método de Soxhlet (Friederich y List, 1982; Gómez y de la Ossa, 2002; Bravi *et al.*, 2007), este comportamiento se debe a que como método, el uso de solventes no polares, parece ser menos selectivos que otros como el caso del CO₂ (Gómez y de la Ossa, 2002; Bhattacharjee *et al.*, 2007) que se utiliza como FSC.

Los aceites extraídos por el método de Soxhlet suelen contener una cantidad relativamente mayor de sustancias no triglicéridos, tales como los fosfolípidos, gomas, ceras y el contenido de la fracción insaponificable como los esteroides, los pigmentos y los hidrocarburos (Przybylski *et al.*, 1998; Du Plessis, 1980), por lo que el aceite extraído por



Soxhlet es esencialmente equivalente a un aceite crudo (Gómez y de la Ossa, 2002; Friederich y List, 1982).

La extracción de aceite por el método de SC-CO₂ fue el de menor rendimiento de los tres (16.10%), esto pudo deberse a las condiciones de extracción (300 bar a 60° C), ya que no fueron las más adecuadas para obtener una mayor solubilidad del aceite en el CO₂ supercrítico, sugiriendo que se presentó el fenómeno “crossover” generalmente observado en aceites.

La solubilidad de los aceites vegetales en SC-CO₂ depende de varios factores. Uno de los más importantes que afectan la solubilidad son las condiciones de proceso, debido a que la temperatura y la presión afectan las propiedades físicas del aceite y la densidad del solvente, por lo tanto, la solubilidad del aceite. De manera general la solubilidad de los aceites en el SC-CO₂ aumenta tanto con la densidad del solvente como con la presión de vapor de los ácidos grasos presentes en éste (King y Bott, 1993).

En estudios de diversos autores (Sánchez *et. al*, 2009; Geerdts, 2005; Botha y McCrindle, 2011; Özkal, 2004) se ha observado que incrementando la presión del CO₂ a temperatura constante, aumenta la solubilidad de los aceites. Sin embargo, el efecto de la temperatura a presión constante no mostró esta tendencia, ya que a bajas presiones se conduce a una disminución en la densidad del CO₂ (la solubilidad disminuye con la temperatura), mientras que a altas presiones, la solubilidad aumenta con la temperatura, originando el fenómeno conocido como “crossover”.

La razón del comportamiento de este fenómeno se debe a que compiten los efectos de la reducción de la densidad del SC-CO₂ y el aumento de la presión de vapor del aceite, que acompaña al incremento de la temperatura. Lo anterior pudo haber sucedido a las condiciones de trabajo empleadas, debido a que pequeños cambios de temperatura o presión pueden dar lugar a un gran cambio en la densidad del CO₂ y por consiguiente cambio en la solubilidad del aceite.

Este comportamiento se observó a condiciones similares en extracción de aceite de cacahuete (350 bar) (Goodrum y Kilgo, 1987), aceite de canola (Fattori *et al.*, 1988), aceite de soya (300 bar) (King y Bott, 1993), aceite de pistacho (280-340 bar) (Palazogu y Balaban, 1998) y en aceite de semilla de albaricoque (200-300 bar) (Özkal, 2004), el



rendimiento por el método de SC-CO₂ del presente trabajo mostró esta misma tendencia, viéndose afectado por el efecto crossover. Por lo tanto, en general, por encima de la presión cruzada “crossover” (250-350 bares), la solubilidad de los aceites en el SC-CO₂ aumenta tanto con la presión y la temperatura.

Al comparar los tiempos de extracción del método asistido por ultrasonido (UAE) se observó que los rendimientos no presentaron diferencia significativa ($p \leq 0.05$), obteniendo 50.14% de aceite en 30 min. En comparación con el método tradicional de extracción de Soxhlet, la extracción UAE redujo el tiempo y temperatura de extracción y el consumo de disolventes, así como lograr una recuperación similar de aceite. La eficiencia del proceso UAE puede ser explicada en términos de los efectos de cavitación generados por la aplicación de ondas de ultrasonido de alta intensidad (42 kHz \pm 6%). Debido a que la amplitud de la onda ultrasónica, es proporcional al tamaño de la burbuja de cavitación formada, así como a la intensidad del colapso de esta, por lo tanto una mayor liberación del aceite contenida en la matriz sólida (Suslick, 1989; Li *et al.*, 2004).

En los trabajos llevados a cabo en extracción de aceite de dos variedades de soya aplicando ultrasonido a 20 kHz, en extracción de aceite en semillas de tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) a 40 kHz y, en extracción de aceite en linaza a 20 kHz mostraron que la aplicación de ultrasonido reduce notablemente el tiempo de extracción (Li *et al.*, 2004; Lazic' *et al.*, 2007; Metherel *et al.*, 2009), encontrándose que los rendimientos reportados fueron muy parecidos a los obtenidos por el método convencional de Soxhlet, lo que lo convierte en un método eficiente y eficaz. Esto concuerda con los resultados obtenidos en el presente estudio, donde también se logró reducir el tiempo de procesamiento y un menor uso de solvente.

Por lo que, se infiere que el mejor método de extracción de aceite de aguacate es por ultrasonido, ya que tiene el potencial para ser utilizado en los procesos de extracción de aceite para mejorar la eficiencia y reducir el tiempo de procesamiento, además, la extracción puede realizarse a temperaturas bajas que son favorables para los compuestos inestables al calor reemplazando a los métodos convencionales.



4.5. Análisis de identidad de los aceites extraídos

En la Figura 24 se muestra los resultados obtenidos de los parámetros de identidad de aceite de aguacate obtenido por los tres métodos de extracción.

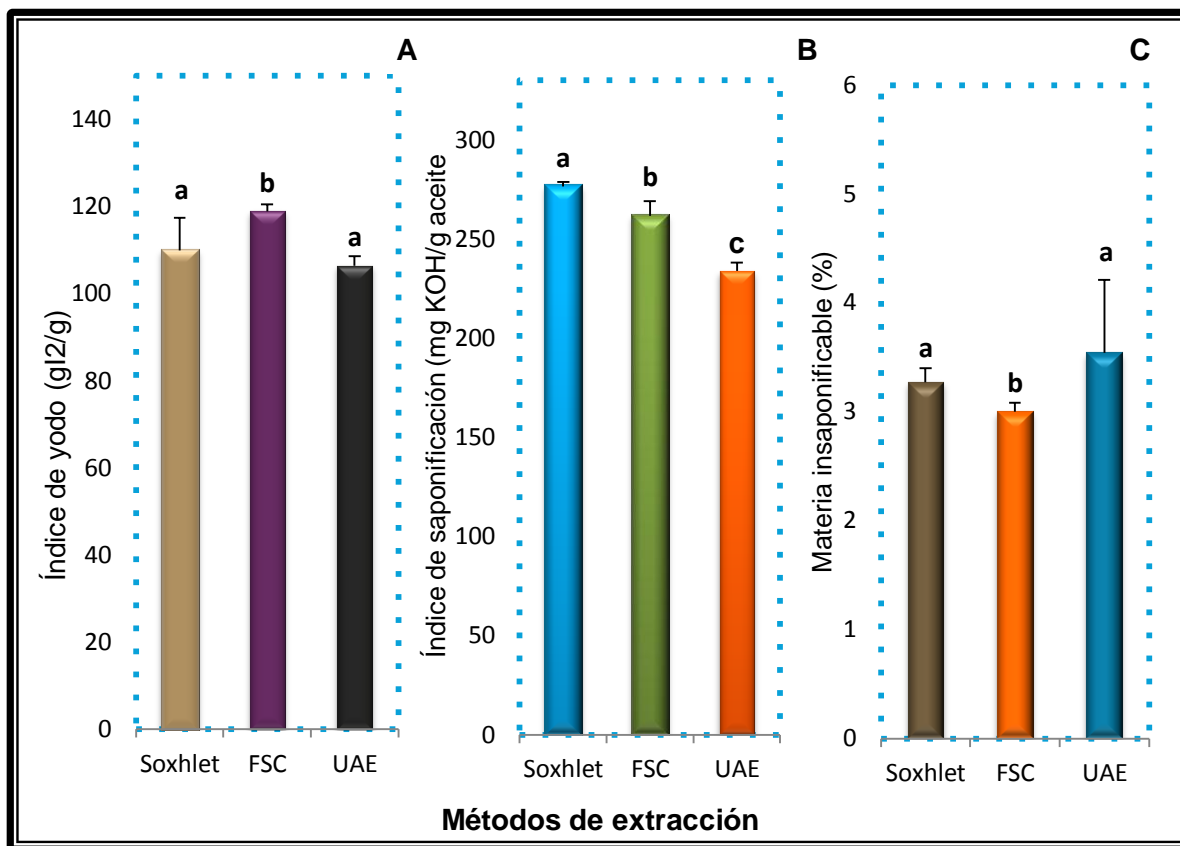


Figura 24. Efecto de tres diferentes métodos de extracción sobre los parámetros de identidad de aceites de aguacate A) índice de yodo, B) índice de saponificación y C) materia insaponificable

Los valores seguidos en cada columna difieren significativamente ($p \leq 0.05$).

El índice de yodo y el contenido de materia insaponificable no presentaron diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre los métodos de SX y UAE, mientras que sí existe diferencia con respecto al método de SC-CO₂. Para el caso del índice de saponificación se presentó diferencia significativa ($p \leq 0.05$) en los tres métodos.

El índice de yodo es una expresión del grado de instauración de los ácidos grasos que componen un aceite y es utilizado para caracterizar diferentes aceites vegetales, por lo



que si este es bajo, significa que la cantidad de ácidos grasos saturados y/o monoinsaturados es alta (Zamora, 2009), los valores encontrados por los tres métodos fueron altos (Figura 24A), esto se asocia a un alto contenido de ácido oleico presente en el aceite de aguacate.

Diversos autores han publicado valores de índice de yodo para aceite de aguacate crudo extraído por diferentes métodos, por ejemplo Turatti *et al.* (1985) reportó valores de índice de yodo de 93 g I₂/100g, Jiménez *et al.* (2001), valores de 84.34 a 92.59 g I₂/100g, Requejo (1999), de 71 a 95 g I₂/100g. Los valores determinados en este estudio se encuentran por arriba de lo reportado en estos trabajos, sin embargo, Martínez *et al.* (1988), reporta valores índice de yodo de 133 g I₂/100g este último es muy similar a los determinados en el presente trabajo.

El índice de saponificación proporciona una medida indirecta del peso molecular (o longitud de la cadena del ácido graso), dado que la mayor parte de la masa de un triglicérido está en sus 3 ácidos grasos presentes. Los valores determinados de índice de saponificación por los tres métodos son altos, con respecto al de otros aceites vegetales como el aceite de oliva, el cual oscila entre 185-196 mg KOH/g aceite, lo que demuestra que el peso molecular de los ácidos grasos es bajo (Figura 24B), esto se debe al tamaño de las cadenas de los ácidos grasos, ya que entre más cortas sean las cadenas hay un mayor número de grupos carboxilo por unidad de masa que necesitan álcali para formar la molécula de jabón. Otra de las posibles causas de los valores altos de índice de saponificación se debe a que los aceites crudos en general, contienen fosfolípidos (parte de la fracción saponificable), que se quitan durante la refinación en la etapa de desgomado (Gunstone, 2004).

El índice de saponificación de aceite por Soxhlet fue más alto que el obtenido por extracción por ultrasonido y SC-CO₂, esto concuerda con lo reportado por Moreno *et al.* (2003), para aceite de aguacate extraído por diferentes métodos; Soxhlet, microondas-hexano, microondas-prensado y extracción con acetona de 273, 235, 241 y 168 mg KOH/g aceite respectivamente, y con lo reportado por Jiménez *et al.* (2001), para aceite extraído por Soxhlet de pulpa deshidratada por microondas de 262 y 168 mg KOH/g, los cuales son muy similares a los obtenidos experimentalmente.



Según lo determinado por la Norma Mexicana (NMX-F-052-SCFI-2008) el valor mínimo de índice de yodo e índice de saponificación para aceite de aguacate refinado es de 85-90 g I₂/g y 177-198 mg KOH/g respectivamente, mientras que los valores determinados en el aceite están fuera de los establecidos por la Norma Mexicana, esto puede deberse a que las determinaciones se realizaron en el aceite crudo, causa de que se encuentre fuera de las especificaciones.

La fracción insaponificable se refiere a las sustancias que frecuentemente se encuentran disueltas en las grasas y aceites, que no pueden ser saponificados por tratamiento alcalino, pero son solubles en grasas y solventes de aceites ordinarios (Farines *et al.*, 1995). Estos componentes menores no glicéridos consisten en ésteres, hidrocarburos, esteroides, alcoholes triterpénicos, tocoferoles, fenoles, fosfolípidos, compuestos aromáticos y clorofila.

En cuanto al contenido de materia insaponificable se encontraron valores altos que variaron entre 3.0 y 3.54% (Figura 24C), esto puede deberse a que las pruebas se realizaron en aceite crudo donde existen mayor cantidad de impurezas insaponificables extractables, además que se ha encontrado que los aceites extraídos de fruta fresca la fracción insaponificable es menor (1 a 2%) al de los aceites extraídos de fruta deshidratada que asciende de 3 a 7% (Farines *et al.*, 1995), dentro de este último se encuentra los valores determinados.

Esta diferencia está asociada con la formación de una nueva clase de compuestos, que consiste en una cadena alifática larga unida a un núcleo furilo, que representa hasta un 50% de la parte insaponificable. La presencia de estos componentes puede estar relacionado con la actividad farmacológica de la parte insaponificable de los lípidos de aguacate y se forma durante el calentamiento antes de la extracción (Farines *et al.*, 1995).

La materia insaponificable de aceite de aguacate se utiliza actualmente en diversos preparados farmacéuticos y cosméticos debido a su función antioxidante. Uno de los principales componentes presentes en el contenido de materia insaponificable que recibe gran atención es el tocoferol, el cual puede llegar a ser de hasta 3,700 ppm (Requejo, 1999).



4.6. Análisis de los parámetros de calidad de los aceites extraídos

En la Figura 25 se observan las características relacionadas a la calidad del aceite extraído por los tres diferentes métodos.

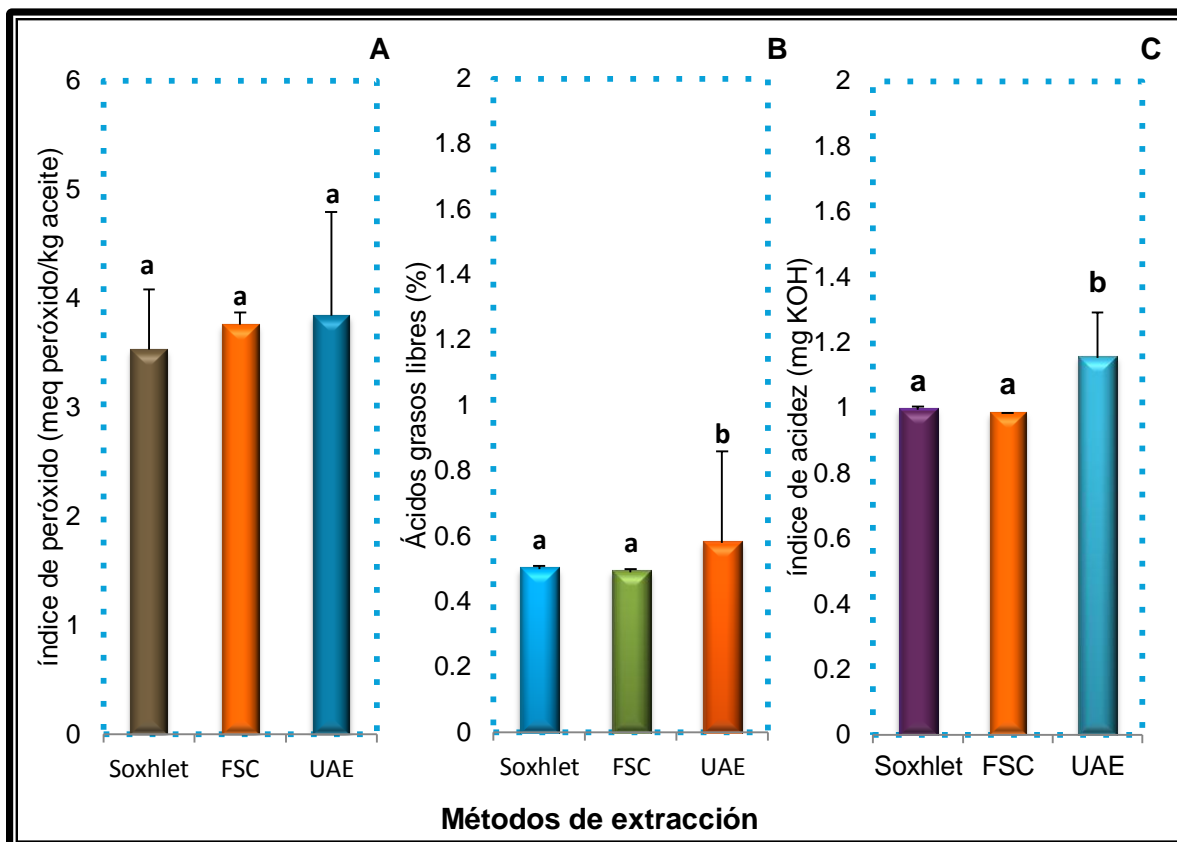


Figura 25. Efecto de tres diferentes métodos de extracción sobre los parámetros de calidad de aceites de aguacate A) índice de acidez, B) ácidos grasos libres e C) índice de saponificación

Los valores seguidos en cada columna difieren significativamente ($p \leq 0.05$).

Las causas principales de la oxidación o enranciamiento de los aceites vegetales son debido a las malas condiciones de almacenamiento como la exposición prolongada al aire (O_2), unida a temperaturas elevadas y a la acción directa de la luz solar. Estas condiciones provoca que durante las primeras fases del mecanismo de oxidación, ocurra la adición de oxígeno a los dobles enlaces de la cadena del ácido graso, formando compuestos relativamente inestables, generalmente llamados peróxidos, en este período



de inducción o primera fase de oxidación, se cree que su concentración aumenta más o menos paralelamente a la absorción de oxígeno (Bailey, 1984).

El índice de peróxidos es un indicador del grado de oxidación de aceites y grasas, para el caso en estudio se determinaron valores que oscilaron entre 3.53 y 3.84 meq peróxido/kg aceite (Figura 25A), no presentando diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre métodos de extracción, mostrando que el método de extracción no altera las características de calidad.

Moreno *et al.* (2003), estudiaron el efecto de diferentes métodos de extracción; microondas-hexano, microondas-prensado, Soxhlet con hexano y cetona en pulpa de aguacate (*Persea americana* Mill), reportaron valores de peróxidos de 3.7, 9.55, 10.69 y 12.74 meq peróxido/kg aceite respectivamente, dentro de estos valores se encontraron los determinados en el presente trabajo, siendo el más alto de 3.84 meq peróxido/kg aceite. White (1995) expuso que los aceites refinados preferiblemente deben tener un valor de peróxidos por debajo de 1 meq/kg aceite, sin embargo se pueden permitir valores de hasta 10 meq/kg aceite, debido a que la rancidez sensorial se percibe en los valores por encima de 10 meq/kg tanto para aceites crudos y refinados (Crapiste *et al.*, 1999; Rossel, 1994). Tomando en cuenta lo anterior los aceites se encuentran dentro de los límites establecidos por estos autores, por lo que se infiere que el grado de oxidación del aceite se encontraba en etapa inicial. Sin embargo se debe cuidar las condiciones de almacenamiento como la exposición prolongada al aire (O_2), debido a que la cantidad de oxígeno absorbido para producir ranciedad varía considerablemente con la composición, para los aceites con alto contenido de ácido oleico y bajo en ácidos poliinsaturados como es el caso del aceite de aguacate, que se enrancian con menor absorción de oxígeno que aquellas en las que la relación de estos ácido es inversa (Bailey, 1984).

El valor de ácidos grasos libres del aceite (AGL) suele ser un indicador de deterioro hidrolítico. En aceites extraídos de fruta madura se ha observado que el porcentaje de ácidos grasos libres es mayor que la no madura, debido a que los frutos maduros tienen niveles más elevados de las enzimas como las lipasas y lipoxigenasas y posiblemente la actividad es mayor que en la fruta verde (Pesis *et al.*, 1978; Platt-Aloia y Thomson, 1981; Prasanna *et al.*, 2007). Los ácidos grasos libres producidos por la degradación hidrolítica son los preferidos por la lipoxigenasa como sustratos que conduce al deterioro oxidativo.



El contenido de ácidos grasos libres del aceite de aguacate osciló entre 0.49 y 0.58 g oleico ácido/100g de aceite (Figura 25B). Estos valores bajos podrían indicar que el pretratamiento empleado a la pulpa de aguacate tuvo una ventaja en lo que a la estabilidad oxidativa del aceite se refiere, ya que el calor producido por las microondas pudo inactivar las enzimas que llevan a la hidrólisis de los ácidos grasos de los triglicéridos (Gunstone, 1996). De acuerdo con la Comisión del Codex Alimentarius (1999), los valores de ácidos grasos libres de aceites refinados debe estar por debajo del 0.3% (0.3 g oleico ácido/100g de aceite), mientras que los crudos pueden alcanzar hasta un 5% dependiendo del tipo de aceite. Los valores de ácidos grasos libres del aceite de aguacate presentes en este estudio se encuentran dentro de lo reportado en la bibliografía.

Moreno *et al.* (2003), reportaron valores de AGL en aceite de aguacate extraído por diferentes métodos que van desde 0.14, 0.27, 0.65 hasta 2.24 % ácido oleico, los valores experimentales se encuentran dentro de este intervalo, y no presentaron diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre los métodos de extracción empleados. De igual manera Vanegas *et al.* (2011), reportaron valores de AGL de 0.47% ácido oleico, muy similar al obtenido en el presente trabajo.

En cuanto al valor de acidez, osciló entre 0.98 y 1.15 mg KOH (Figura 25C). Jiménez *et al.* (2001), estudiaron las propiedades físicas y químicas del aceite obtenido de purés deshidratados por energía microondas y deshidratados por horno eléctrico, obteniendo valores de acidez de 1.13 y 1.88 mg KOH respectivamente, dentro de este intervalo se encuentran los valores obtenidos en el presente trabajo y de igual manera que en el porcentaje de AGL no se observó diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre los métodos de extracción asistida por ultrasonido y Soxhlet.

En general en el presente estudio de la optimización del proceso de extracción de aceite de aguacate se observó que el método que menor tiempo de procesamiento presentó fue el asistido por ultrasonido. Las propiedades de calidad e identidad no se ven alteradas por el método de extracción, sin embargo después de ser refinado el aceite se puede observar más claramente este efecto.

El incremento de la producción de aceite de aguacate en México como respuesta a una demanda centrada en el mercado de la producción farmacéutica, de cosméticos y



nutracéuticos, pero con un incremento en la industria alimenticia, da pie a que el aceite de aguacate pueda ser utilizado por aquellas compañías que desean remplazar el aceite de cacahuete, después de que han publicado informes que con este aceite existe cierto riesgo de provocar reacciones alérgicas, sobre todo en niños, muchas evidencias señalan las propiedades benéficas de algunos componentes insaponificables dentro del aceite de aguacate, que están relacionados con la inhibición de la lisil-oxidasa. La inhibición de la actividad de ésta enzima puede abrir nuevas áreas para la aplicación del aceite de aguacate en el tratamiento de heridas y quemaduras.



CONCLUSIONES





CONCLUSIONES

Con base en los resultados obtenidos en el presente trabajo se concluye lo siguiente:

- Los frutos de aguacate de variedad 'Hass' en madurez comercial exhiben un alto contenido de aceite (23.3%) que representa una oportunidad tecnológica para el aprovechamiento integral del fruto, generando un subproducto de alto valor nutrimental.
- El método de extracción asistido por ultrasonido reduce el tiempo de extracción a sólo 30 minutos con rendimientos muy parecidos a los obtenidos por el método convencional de Soxhlet, representando una capacidad de extracción del 80% del aceite total contenido en la pulpa de aguacate.
- Este método presenta la ventaja de menor tiempo de extracción, menor uso de disolventes y energía, de bajo costo, reproducible, simple y eficiente de relevancia industrial para mejorar el proceso de extracción.
- Los parámetros evaluados de identidad de los aceites obtenidos mostraron altos valores de índice de yodo e índice de saponificación proporcionando indicadores de que los aceites contienen altos niveles de ácidos monoinsaturados y poliinsaturados
- Las propiedades relacionadas con la calidad de los aceites como es el caso del valor de peróxidos y de acidez se encontraron dentro de los rangos establecidos por la Comisión del Codex Alimentarius para los tres métodos de extracción.
- Los aceites no presentaron alto grado de deterioro, también se observó que las propiedades de calidad e identidad no se ven alteradas por el método de extracción.



RECOMENDACIONES

Con base en los resultados obtenidos en el presente trabajo se recomienda lo siguiente:

- Determinar la composición química de las harinas obtenidas como subproducto de la extracción de aceite y proponer su uso como complementos alimenticios.
- Optimizar las condiciones de temperatura y presión en el método de CO₂-SC, para obtener mayores rendimientos de extracción para aceite de aguacate.
- Realizar un refinamiento RBD (refinado, blanqueado y desodorizado) a los aceites y evaluar a fondo las propiedades de identidad y de calidad, asimismo hacer un seguimiento de vida útil y con ello proponer aplicaciones industriales en alimentos.
- Realizar un análisis de perfil de ácidos grasos con el fin de identificar y cuantificar los ácidos grasos presentes en el aceite de aguacate.



REFERENCIAS





REFERENCIAS

- ✓ Álvarez, F. (2004). Obtención, caracterización y optimización del proceso de extracción del aceite de la semilla de mango. Tesis de Licenciatura: Facultad de Química, UNAM.
- ✓ AOAC (1980). Official Methods of Analysis Association of Official Analytical Chemists. Washington D. C.
- ✓ Awad, M. y Young (1979). Postharvest variation in cellulose, polygalacturonase, and oectimethylesterase in avocado (*Persea americana Mill*, cv. 'Fuerte') fruit in relation to respiration and ethylene production. *Plant physiology*, 64, 306-308.
- ✓ Bailey, A. E. (1984). Aceites y Grasas Industriales. España: Reverté.
- ✓ Barrientos, A. F., y García, E., Avitia, E. (1996). Anatomía del fruto de aguacate, ¿Drupa o Baya?. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 2: 189-198. Disponible en: <http://www.chapingo.mx/revistas/>
- ✓ Belmar, R. (1996). Variación estacional de la concentración de aceite y humedad de la pulpa y calidad en frutos de palto cvs: 'Bacon' y 'Edranoí'. Tesis de Licenciatura en Ingeniería Agrónoma, Universidad de Chile, Chile.
- ✓ Benedito, M., Clemente, y García, P. (2004). Use of ultrasonics for the composition assessment of olive mill wastewater (alpechin). *Food Research International*, 37, 595-601.
- ✓ Bergh, B., Kumamoto, J., y Chen, P. (1989). Determination maturity in whole avocado. *California Avocado Soc. Yearbook*, 173-176.
- ✓ Bhattacharjee, P., Singal, R., y Tiwari, S. (2007). Supercritical carbon dioxide extraction of cottonseed oil. *Journal of Food Engineering*, 79, 892-898.
- ✓ Biale, J.B., y Young, R.E. (1962). The biochemistry of fruit maturation. *Endeavour*, 21, 164-174.
- ✓ Biale, J., y Young, R. (1971). The biochemistry of fruit and their products". *Acad. Press. London and N. Y.*, 2, 1-63.



- ✓ Blanke, M. M. (1991). Respiration of apple and avocado fruits. *Postharvest News and Information*, 2, 429-436.
- ✓ Blanke, M. M., y Whiley, A. W. (1995). Bioenergetics, respiration cost and water relations of developing avocado fruit. *Journal of Plant Physiology*, 145, 87-92.
- ✓ Botha, M., y McCrindle, I. (2011). Solubility of triclycerides in unmodified supercritical carbon dioxide. Universidad de Pretoria. International Society for Advancement of Supercritical Fluids. Consultado en Abril de 2011. Disponible en: <http://www.isasf.net/fileadmin/files/Docs/Versailles/Papers/PN68.pdf>
- ✓ Bower, J. P., y Cutting, J. G. (1988). Avocado fruit development and ripening physiology. *Horticultural Reviews*, 10, 229-271.
- ✓ Bravi, M., Spinoglio, F., Verdone, N., Adami, M., Aliboni, A., D'Andrea, A., De Santis, A., Ferri, D. (2007). Improving the extraction of α -tocopherol-enriched oil from grape seeds by supercritical CO₂. Optimisation of the extraction conditions. *Journal of Food Engineering*, 78, 488-493.
- ✓ Bressani, R. (2009). La composición química, capacidad antioxidativa y valor nutritivo de la semilla de variedades de aguacate, Proyecto FODECY, Guatemala.
- ✓ Cabredo, P., Cdron , F., González , B. (2006). Ultrasound-assisted extraction of volatile compounds from wine samples: optimisation of the method. *Talanta*, 69, 1123-1129.
- ✓ Chemat, F., Zill-e-Huma, Kamram, K. (2011). Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction. *Ultrasonics Sonochemistry*, 18, 813-835.
- ✓ Chen, F., Sun, Y., Zhao, G., Liao, X., Hu, X., Wu, J., Zhengfu, W. (2007). Optimization of ultrasound-assisted extraction of anthocyanins in red raspberries and identification of anthocyanins in extract using high-performance liquid chromatography-mass spectrometry. *Ultrasonics Sonochemistry*, 14, 767-778.



- ✓ Cleaning Technologies Group. (2011). Consultado en Marzo de 2011. Disponible en: www.ctgclean.com/technology-library/articles/ultrasonic-cleaning-fundamental-theory-and-application/
- ✓ Codex, Alimentarius. (1999). Commission Food Standards Programme Codex Committee on Fats and Oils. Joint FAO/WHO .
- ✓ Cornejo Mendoza V. (2010). Deshidratación de rebanadas de aguacate variedad 'Hass' por el método OSMO-VAC (osmótico-vacío) y evaluación de la calidad del producto. Instituto Politecnico Nacional, Escuela Nacional de Ciencias Biologicas, México.
- ✓ Cossutaa, D., Simándia, B., Vágia, E., Hohmann, J., Prechl, A., Lemberkovics, É., Kery, A., Kevet, T. (2008). Supercritical fluid extraction of Vitex agnus castus fruit. *Journal of Supercritical Fluids*, 47, 188-194.
- ✓ Crapiste, H., Brevedan, M., y Carelli, A. (1999). Oxidation of sunflower oil during storage. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 76, 1437-1443.
- ✓ Cutting, J. G., Bower J. P., Wolstenholme, B. N., y Hofman, P. J. (1990). Changes in ABA, polyphenol oxidase, phenolic compounds and polyamines and their relationship with mesocarp discolouration in ripening avocado (*Persea americana* Mill) fruit. *Journal Horticultural Science*, 65, 455-471.
- ✓ Danielski, L., Zetzi, C., Hense, H., y Brunner, G. (2005). A process line for the production of raffinated rice oil from rice bran. *Journal Supercritic Fluids*, 34 (2), 133-141.
- ✓ Del Castillo, G. (2004). Estudio de la factibilidad para la instalación de una planta productora de Vitamina E microencapsulada y aceite a partir de aguacate 'Hass'. Tesis de Licenciatura en Ingeniería en Alimentos, Universidad Autónoma de México, México.
- ✓ Del Valle, J., Jiménez, M., y De la Fuente (2003a). Extraction kinetics of pre-pelletized Jalapeño peppers with supercritical CO₂. *Journal Supercritical Fluids*, 25, 33-44.



- ✓ Del Valle, J., Rivera, O., y Palma, M. (2003b). Supercritical CO₂ extraction of chilean hop (*Humulus lupulus*). *Journal Science Food Agriculture*, 83, 1349-1356.
- ✓ Del Valle, J., Jiménez, M., Napolitano, P., Zetzl, C., y Brunner, G. (2003c). Supercritical carbon dioxide extraction of pelletized Jalapeño peppers. *Journal Science Food Agriculture*, 83, 550-556.
- ✓ Diosady, Rubin, L., Ting, N., y Trass, O. (1983). Rapid extraction of canola oil. *Journal of the American Oil Chemist's Society*, 60, 1659-1661.
- ✓ Domínguez, H., Núñez, M., y Lema, J. (1994). Enzymatic pretreatment to enhance oil extraction from fruits and oilseeds: a review. *Food Chemistry*, 49, 271-286.
- ✓ Duester, K. (2000). Avocados. A look Beyond basic nutrition for one of Nature's whole foods. Ed. *Nutr Today*. Consultado en Abril 2011. Disponible en: <http://www.findarticle.com>.
- ✓ Eaks, I. L. (1978). Ripening, respiration and ethylene production of 'Hass' avocado fruits at 20° to 40° C. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 103 (5), 576-578.
- ✓ Eaks, I. L. (1990). Change in the fatty acid composition of avocado fruit during ontogeny, cold storage and ripening. *Tropical Fruit in International Trade. Acta Horticulturae*, 269, 141-151.
- ✓ Esquivel, F. (2007). Uso de aceites esenciales extraídos por medio de fluidos supercríticos para la elaboración de alimentos funcionales. *Tecnología en Marcha*, 20 (4), 41-50.
- ✓ Esteban, S. (1993). Estimación del contenido de aceite, a través de la humedad y su relación con la palatabilidad en frutos de paltos de las variedades: Negra de la Cruz, Bacon, Edranol y 'Hass' desde la última etapa de desarrollo hasta madurez fisiológica. *Universidad Católica de Valparaíso Facultad. Agr. Chile*, 54.
- ✓ FAO. (2011). Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Consultado en Marzo de 2011. Disponible en: <http://www.fao.org>.



- ✓ Farines, M., Soulier, J., Rancurel, A., Montaudoin, M., y Leborgne, L. (1995). Influence of avocado oil processing on the nature of some unsaponifiable constituents. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 72, 473-476.
- ✓ Fattori, M., Bulley, N., y Meshen, A. (1988). Carbon dioxide extraction of canola seed: oil solubility and effect of seed treatment. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 65 (6), 968-974.
- ✓ FIRA, B. I. (1990). El futuro de la industria del aguacate. *Panorama mundial*, XXII (220).
- ✓ Friederich, J., y List, G. (1982). Characterization of soybean oil extracted by supercritical carbon dioxide and hexane. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 30, 192-193.
- ✓ Gallego, I. C. (2004). Diseño conceptual de un sistema de extracción supercrítica, a escala banco, utilizando dióxido de carbono como solvente. Tesis de maestría de Ingeniería de procesos. Universidad de EAFIT, Colombia.
- ✓ García, C. (2008). Elaboración de margarina a partir de aceite de aguacate. Tesis de Licenciatura de Ingeniería de Procesos, Universidad EAFIT, Colombia.
- ✓ Gardiazábal, F., y Rosenberg, G. (1991). Cultivo del Palto. Universidad Católica de Valparaíso. Facultad de Agronomía. Chile.
- ✓ Geerds, I. (2005). Extraction of olive oil with supercritical carbon dioxide. Tesis de Maestría en Química Farmacéutica, Universidad del Noroeste, África.
- ✓ Goodrum, J., y Kilgo, M. (1987). Peanut oil extraction with SC-CO₂: solubility and kinetic functions. *Transactions of the American Society of Agricultural and Biological Engineers*, 30 (6), 1865-1868.
- ✓ Gunstone, F. (1996). *Fatty Acid and Lipid Chemistry*. Blackie Academic & Professional, London, 1-23.
- ✓ Gunstone, F. (2004). *The Chemistry of oils and fats. Sources, composition, properties and uses*. Blackwell Publishing, Oxford, United Kingdom, 23-32.



- ✓ Hatfield, R., y Nevins, D. (1986). Characterization of the hydrolytic activity of avocado cellulase. *Plant & Cell Physiology*, 27, 541-552.
- ✓ Hernández, M. C. (1979). Valor Nutritivo de los Alimentos Mexicanos. Instituto Nacional de la Nutrición, 1985.
- ✓ Hope, T. (1983.). Quality test identify best avocados, *Qd. Agriculture.Journal*, 89, 1-4.
- ✓ Hurtado, B. A. (2002). Estudio del proceso de extracción de componentes minoritarios de aceite de oliva con CO₂ supercrítico en contracorriente. Tesis Doctoral, Universidad Autónoma de Madrid, España.
- ✓ INFOHASS (2010) Información al servicio del aguacatero. Consultado en Febrero de 2011. Disponible en: www.infohass.com.mx
- ✓ James, C. (1999). *Analytical Chemistry of Foods*. Maryland: An Aspen Publication, Gaithersburg.
- ✓ Jaubert, J. (1970). L' huiled' avocat: propriétés technologie. *Industries Alimentaries et Agricoles*, 87(11), 1411-1416.
- ✓ Jiménez, E., Aguilar, R., Zambrano, L., y Kolar, E. (2001). Propiedades físicas y químicas del aceite de aguacate obtenido de puré deshidratado por microondas. *Journal of the Mexican Chemical Society*, 45, 89-92.
- ✓ Kanellis, A., Solomos, T., y Matto, A. (1989). Hydrolytic enzyme activities and protein pattern of avocado fruit ripened in air and low oxygen, with and without ethylene. *Plan Physiology*, 90, 259-266.
- ✓ Kikuta, Y., y Erickson, L. (1968). Seasonal Changes of Avocado Lipids During Fruit Development and Storage. *California Avocado Society Yearbook*, 52, 102-108.
- ✓ Kimbaris, A., Siatis, N., Daferera, D., Tarantilis, P., Pappas, C., y Polissiou, M. (2006). Comparision of distillation and ultrasound-assisted extraction methods for the isolation of sensite aroma compounds from garlic (*Allium sativum*). *Ultrasound Sonochemistry*, 13, 54-60.



- ✓ King, M., y Bott, T. (1993). Extraction of natural products using near-critical solvents. U. K.: Chapman and Hall, Glaskow.
- ✓ Kira, R. (1991). Pearson's Composition and Analysis of Foods. USA: Ed. Longman Scientific & Technical.
- ✓ Lazic', M., Veljkovic', V., y Stanisavljevic', T. (2007). Ultrasonic extraction of oil from tobacco (*Nicotiana tabacum* L.). *Ultrasonics Sonochemistry*, 14, 646-652.
- ✓ Lee, S., Young, R., Schiffman, P., y Coggins, J. (1983). Maturity studies of avocado fruit based on picking dates and dry weight. *Journal American Society Horticultural Science*, 108 (3), 390-394.
- ✓ Lewis, C. (1978). The Maturity of Avocados a General Review. *Journal of Science Food and Agriculture*, 29, 857-866.
- ✓ Li, H., Pordesimo, L., y Weiss, J. (2004). High intensity ultrasound-assisted extraction of oil from soybeans. *Food Research International*, 37, 731-738.
- ✓ Liu, X., Robinson, P., Madore, M., Witney, G., y Arpaia, M. (1999). 'Hass' avocado carbohydrate fluctuations. II. Fruit growth and ripening. *J. American Society Horticultural Science*, 124 (6), 676-681.
- ✓ Lowry, O., Rosenbrough, N., Farr, A., y Randall, R. (1951). *Protein measurement with the Folin Phenol Reagent*. *Journal Biological Chemistry*, 193, 265-275.
- ✓ Lozano, Y., Dhuique, C., Bannon, C., y Gaydou, E. (1993). Unsaponifiable matter, total sterol and tocopherol contents of avocado oil varieties. *Journal of Analysis Oil Chemistre Society*, 70, 561-565.
- ✓ Luza, J. G., Lizana, L. A., y Masson, L. (1990). Comparative lipids evolution during cold storage of three avocado cultivars. *International Society for Horticultural Science*, 269, 153-160.
- ✓ Martínez, N. (1988). Extracción y caracterización del aceite de aguacate. *Grasas y aceites*, 39, 272-277.



- ✓ Martínez, O. (1984). Variación estacional en el contenido de aceite, contenido de humedad tamaño palatabilidad: e frutos de palto *Persea americana* Mill cvs. 'Negra de la Cruz', 'Bacon', 'Zutano', 'Fuerte', 'Edranol' y 'Hass'. Tesis de Licenciatura en Ingeniería Agrícola. Universidad Católica de Valparaíso, Chile.
- ✓ Mason, T., Paniwnyka, L., y Lorimera, J. (1996). The uses of ultrasound in food technology. *Ultrasonics Sonochemistry*, 3 (3), S253-S260.
- ✓ Metherel, A., Taha, A., Izadi, H., y Stark, K. (2009). The application of ultrasound energy to increase lipid extraction throughput of solid matrix samples (flaxseed). *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 81, 417-423.
- ✓ Mezzomo, N., Mileo, R., Friedrich, T., Martínez, J., y Ferreira, R. (2010). Supercritical fluid extraction of peach (*Plunus persica*) almond oil: Process yield and extract composition. *Bioresource Technology*, 101, 5622-5632.
- ✓ Miller, L. (1959). Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. *Analytical Chemistry*, 3 (31), 426-428.
- ✓ Moreno, O., Dorantes, L., Galiandez, J., y Guzman, I. (2003). Effect of Different Extraction Methods on Fatty Acids, Volatile Compounds, and Physical and Chemical Properties of Avocado (*Persea americana* Mill) Oil. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, 51, 2216-2221.
- ✓ Morris, R., y O'Brien, K. (1980). Testing avocado for maturity. *California Avocado Society Yearbook* 64, 67-70.
- ✓ Moura, L., Carvalho, R., Stefanini, M., Ming, L., y Meireles. (2005). Supercritical fluid extraction from fennel (*Foeniculum vulgare*): global yield, composition and kinetic data. *Journal Supercritic Fluids*, 35 (3), 212-219.
- ✓ Nagalingam, T. (1993). The application of combined preservation techniques to maintain the quality and extend the shelf life of avocado. Department of Food Science and Technology. University of Reading. U.K., 140-145.
- ✓ NMX-F-052-SCFI-2008. Aceites y grasas: aceite de aguacate, especificaciones. Norma mexicana.



- ✓ NMX-F-428-1982. Determinación de humedad (método rápido de la termobalanza). Norma mexicana.
- ✓ NMX-FF-016-SCFI-2006. Productos alimenticios no industrializados para uso humano, fruta fresca; Aguacate (*Persea americana* Mill). Norma mexicana.
- ✓ NMX-K-306-SCFI-2006. Aceites y Grasas vegetales o animales, Determinación del contenido de Materia Insaponificable. Norma mexicana.
- ✓ Owusu-Ansah, Y. (1997). Enzyme-Assisted Extractions. In: Wan, P.J. y Wakelyn, P.J. (Eds), Technology and Solvents for Extracting Oilseeds and Nonpetroleum Oils, AOCS Press, Champaign, Illinois. 323-332.
- ✓ Özkal, G. S. (2004). Supercritical Carbon dioxide extraction of apricot kernel oil. Tesis de Doctorado en Filosofía, Universidad Politécnica, Turquía.
- ✓ Özkal, S., Salgón, U., y Yener, M. (2005). Supercritical carbon dioxide extraction of hazelnut oil. Journal Food Engineering, 69, 217-233.
- ✓ Palazoğlu, T., y Balaban, M. (1998). Supercritical CO₂ extraction of roasted pistachio nuts. Transactions of the ASAE, 41 (3), 679-684.
- ✓ Palmer, M., y Ting, S. (1995). Applications for supercritical fluid technology in food processing. Food Chemistry, 52, 345-352.
- ✓ Parodi, G., Sánchez, M., y Daga, W. (2007). Correlación del contenido de aceite, materia seca y humedad de pulpa como indicadores de cosecha en frutos de palto (*Persea americana* Mill) cv. 'Hass' cultivada bajo condiciones de dos localidades en Chíncha Perú. Proceedings VI World Avocado Congress, 1-9.
- ✓ Parra, V. (2005). Rendimiento y calidad de pulpa y aceite en nueve selecciones de palto (*Persea americana* Mill) en Chile. Tesis de Licenciatura Ingeniería Agrónoma. Universidad de Chile, Chile.
- ✓ Pérez Rosales R. (2002). El Aceite de Aguacate en México. Citado en Revista digital científica y tecnológica. Universidad de Guadalajara, XVI Vol.8 (37).



- ✓ Pérez Rosales R., (2005). El Aceite de Aguacate y sus Propiedades Nutricionales (Continuación). Revista Digital Científica y Tecnológica e-Gnois. Universidad de Guadalajara, 4 Art. 3. Disponible en: <http://www.redalyc.uaemex.mx/src/inicio/ArtPdfRed.jsp?iCve=73000310>.
- ✓ Pesis, E., Fuchs, Y., y Zauberman, G. (1978). Cellulase activity and fruit softening in avocado. *Plant Physiology*, 61, 416-419.
- ✓ Petrucci, R. H., y Herwood, W. S. (1997). *General Chemistry: Principles and Modern Applications* (7 ed.). Prentice Hall, U.E.
- ✓ Platt-Aloia, K., y Thomson, W. (1981). Ultrastructure of the mesocarp of mature fruit and changes associated with ripening. *Annals of Botany*, 48, 451-465.
- ✓ Prasanna, V., Prabha, T., y Tharanathan, R. (2007). Fruit ripening phenomena- An overview. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 47, 1-19.
- ✓ Przybylski, R., Lee, Y., y Kim, I. (1998). Oxidative stability of canola oils extracted with supercritical carbon dioxide. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*, 35, 687-693.
- ✓ Ramírez, C. R. (2008). Desarrollo de un aderezo elaborado con base en aceite de aguacate y estudio de sus propiedades fisicoquímicas y reológicas. Tesis de Licenciatura en Ingeniería de Alimentos, Universidad de las Américas Puebla, México.
- ✓ Requejo, C. T. (1999). International trends in fresh avocado and avocado oil production and seasonal variation of fatty acids in new zealand-grown cv. 'Hass'. Tesis de Maestría en Ciencias Aplicadas en Agronegocios en la Universidad Massey, Nueva Zelanda.
- ✓ Reverchon, E., Daghero, J., Marrone, C., Mattea, M., y Poletto, M. (1999). Supercritical fractional extraction of fennel seed oil and essential oil: experiments and mathematical modeling. *Ind. Engineering Chemistry*, 38, 3069-3075.



- ✓ Rivas, F., A. (2010). Control de antracnosis en aguacate (*Persea americana* Mill) variedad 'Hass' por tratamiento de irradiación UV-C, Tesis de Licenciatura en Ingeniería en Alimentos, UNAM, México.
- ✓ Rodríguez S., Pinto, G., y Fernández, F. (2008). Optimization of ultrasound extraction of phenolic compounds from coconut (*Cocos nucifera*) shell powder by response surface methodology. *Ultrasound Sonochem*, 15, 95-100.
- ✓ Sahena, F., Zaidul, I., Jinap, S., Karim, A., Abbas, K., Norulaini, N., y otros. (2009). Application of supercritical CO₂ in lipid extraction – A review. *Journal of Food Engineering*, 95, 240-253.
- ✓ Salamanca, G., y Bermúdez, S. (2009). Extracción y caracterización de la oleorresina del orégano (*Origanum vulgare*). Tesis de Licenciatura en Tecnólogo en Química, Colombia.
- ✓ Saldaña, M., Mohamed, R., y Mazzafera, P. (2002). Extracction of cocoa butter from Brazilian cocoa beans using supercritical CO₂ and ethane. *Fluid Phase Equilibria*, 194, 885-894.
- ✓ Sánchez, Y., Caban, A., Renuncio, R., y Pando, C. (2009). Supercritical fluid extraction of peach (*Prunus persica*) seed oil using carbon dioxide and ethanol. *Journal of Supercritical Fluids*, 49, 163-173.
- ✓ Saavedra, S. (1995). Evolución de parámetros físico-químicos y sensoriales en paltas cvs. 'Hass', 'Gwen' y 'Whitsell'. Tesis de Licenciatura en Ingeniería Agrónoma, Universidad Católica de Valparaíso, Chile.
- ✓ Schroeder, C. (1985). Aberrant fruit development in avocado. *South African Avocado Grower's Association Yearbook*, 8, 27-28.
- ✓ Schroeder, C. (1987). Physiological gradients in fleshy pericarp of avocado. *South African Avocado Grower's Association Yearbook*, 10, 32-34.
- ✓ Scott, F., Bystrom, G., y Bowler, E. (1963). *Persea Americana*, mesocarp cell structure, light and electron microscope study. *Botanical Gazette*, 124, 423-428.



- ✓ SIAP-SAGARPA, (2010). SIAP.Consultado el 22 de Septiembre de 2010. Disponible en: www.aguacate.gob.mx
- ✓ SIIM, (2010). Análisis del Mercado de Aguacate. SIIM. México: Boletín No. 1 Mayo.
- ✓ Slinkard, K., y Singlanton, V. (1977). Total phenol analysis; automation and comparision with manual methods. *American Journal of Enology and Viticulture*, 28, 49-55.
- ✓ Sorian, C., y Villamiel, M. (2010). Efect of ultrasound on the thechnological properties and bioactivity of food a review. *Trends in Food Science & Technology*, 21, 323-331.
- ✓ Spricigo, C., Bolzan, A., y Pinto, L. (2001). Mathematical modeling of nutmeg essential oil extraction by liquid carbon dioxide. *Latin America Applied Research*, 31, 397-401.
- ✓ Susaeta, I. L. (2003). Extracción con fluidos supercríticos para la eliminación de contaminantes. GAIKER, Centro Tecnológico, 117-122.
- ✓ Suslick, K. (1989). The Chemical effects of Ultrasound. *Scientific American*, 260, 80-86.
- ✓ Swarts, D. (1976). The no-nonsense determination of oil content for avocados. *Information Bulletin, Citrus and Subtropical Fruit Research Institute, London*, 4 (42), 4.
- ✓ Tingwa, P., y Young , R. (1975). Studies on the inhibition of ripening in attached avocado (*Persea americana* Mill) fruits. *J. American Society Horticultural Science*, 100, 447-449.
- ✓ University of Bristol (2011). Intramuscular fat . Soxhlet extraction, Institute for Learning and Research Technology, University of Bristol, UK. Consultado en Agosto de 2011. Disponible en: [http://www.ltss.bris.ac.uk/jules/youngtrain/Intramuscular_fat\(0-3\)/page_07.htm](http://www.ltss.bris.ac.uk/jules/youngtrain/Intramuscular_fat(0-3)/page_07.htm)
- ✓ Vakis, N., y Papadementrion, L. (1985). Maturity and pickings dates of avocado under Cyprus condition. *California Avocado Soc. Yearbook*, 45, 78-79.



- ✓ Vanegas, G., Forero, L., y Sandoval, A. (2011). Effect of enzymatic treatment in avocado oil extraction (*Persea americana* Mill). Investigación agropecuaria CORPOICA, 1-5.
- ✓ Velasco, J., R., Villada, S., Carrera, E., J. (2007). Aplicaciones de los Fluidos Supercríticos en la Agroindustria. Información Tecnológica, 18(1), 53-65.
- ✓ Vilkhov, K., Mawson, R., Simons, L., y Bates, D. (2008). Applications and opportunities for ultrasound assisted extraction in the food industry. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 9, 161-169.
- ✓ Vinatoru, M. (2001). An overview of the ultrasonically assisted extraction of bioactive principles from herbs. Ultrasonics Sonochemistry, 8, 303-313.
- ✓ Werman, M., y Neeman, I. (1987). Avocado Oil Production and Chemical Characteristics (Vol. 64). Journal of American Oil Chemists' Society.
- ✓ White, J. (1995). Conjugated diene, anisidine value and carbonyl value analyses. AOCS Press Illinois.
- ✓ Xia, T., Shi, S., y Wan, X. (2006). Impact of ultrasonic-assisted extraction on the chemical and sensory quality of tea infusion. Journal of Food Engineering, 74, 557-560.
- ✓ Zamora Rodríguez T. M. (2009). Extracción y caracterización del aceite de la pulpa de aguacate tipo 'Hass' (*Persea americana* Mill), Tesis de Licenciatura Fac. de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, México.