



Universidad de San Carlos de Guatemala
Facultad de Ingeniería
Escuela de Ingeniería Química

**EXTRACCIÓN Y CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DE
LA FRACCIÓN COLORANTE DE LA SEMILLA DEL AGUACATE (PERSEA
AMERICANA MILLER) A NIVEL LABORATORIO**

Eva Isabel García Ramírez

Asesorado por la Inga. Telma Maricela Cano Morales

Guatemala, noviembre de 2012

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA



FACULTAD DE INGENIERÍA

**EXTRACCIÓN Y CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DE
LA FRACCIÓN COLORANTE DE LA SEMILLA DEL AGUACATE (PERSEA
AMERICANA MILLER) A NIVEL LABORATORIO**

TRABAJO DE GRADUACIÓN

PRESENTADO A LA JUNTA DIRECTIVA DE LA
FACULTAD DE INGENIERÍA

POR

EVA ISABEL GARCÍA RAMÍREZ

ASESORADO POR LA INGA. TELMA MARICELA CANO MORALES

AL CONFERÍRSELE EL TÍTULO DE

INGENIERA QUÍMICA

GUATEMALA, NOVIEMBRE DE 2012

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE INGENIERÍA



NÓMINA DE JUNTA DIRECTIVA

DECANO	Ing. Murphy Olympo Paiz Recinos
VOCAL I	Ing. Alfredo Enrique Beber Aceituno
VOCAL II	Ing. Pedro Antonio Aguilar Polanco
VOCAL III	Inga. Elvia Miriam Ruballos Samayoa
VOCAL IV	Br. Juan Carlos Molina Jiménez
VOCAL V	Br. Mario Maldonado Muralles
SECRETARIO	Ing. Hugo Humberto Rivera Pérez

TRIBUNAL QUE PRACTICÓ EL EXAMEN GENERAL PRIVADO

DECANO	Ing. Herberth René Miranda Barrios
EXAMINADORA	Inga. Hilda Piedad Palma de Martini
EXAMINADORA	Inga. Rosa María Girón Ruiz
EXAMINADOR	Ing. Rodolfo Francisco Espinoza Smith
SECRETARIA	Inga. Gilda Marina Castellanos de Illescas

HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

En cumplimiento con los preceptos que establece la ley de la Universidad de San Carlos de Guatemala, presento a su consideración mi trabajo de graduación titulado:

EXTRACCIÓN Y CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DE LA FRACCIÓN COLORANTE DE LA SEMILLA DEL AGUACATE (PERSEA AMERICANA MILLER) A NIVEL LABORATORIO

Tema que me fuera asignado por la Dirección de Escuela de Ingeniería Química, con fecha 25 de agosto de 2008.



Eva Isabel García Ramírez



Oficio No.114-2009-CII
Guatemala, 24 de julio de 2009.

Ingeniero
Williams Guillermo Álvarez Mejía
Director de Escuela de Ingeniería Química
Facultad de Ingeniería
Presente.

Estimado Ingeniero Álvarez:

Por este medio le informo que he revisado y aprobado el informe final del Trabajo de Graduación titulado: "EXTRACCIÓN Y CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DE LA REACCIÓN COLORANTE DE LA SEMILLA DEL AGUACATE (*Persea americana* Miller) A NIVEL DE LABORATORIO" de la estudiante Eva Izabel García Ramírez con número de carné 93-12846.

Después de haber realizado la revisión del informe final de Trabajo de Graduación y de haber hecho las correcciones pertinentes, considero que llena los requisitos para su aprobación.

Sin otro particular y agradeciéndole la atención que se sirva dar a la presente, me suscribo de usted.

Atentamente,
"ID Y ENSEÑAD A TODOS"

Inga. Telma Mariocela Cano Morales
Directora del Centro de Investigaciones de Ingeniería/USAC
ASESORA



c.c. archivo



Guatemala, 27 de febrero de 2012
Ref. EI.Q.TG-IF.005.2012

Ingeniero
Williams Guillermo Álvarez Mejía
DIRECTOR
Escuela Ingeniería Química
Facultad de Ingeniería

Estimado Ingeniero Álvarez:

Como consta en el Acta TG-105-2009-A-IF le informo que reunidos los Miembros de la Terna nombrada por la Escuela de Ingeniería Química, se practicó la revisión del:

INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADUACIÓN

Solicitado por la estudiante universitaria: **Eva Isabel García Ramírez**

Identificada con número de carné: **1993-12846**

Previo a optar al título de INGENIERA QUÍMICA.

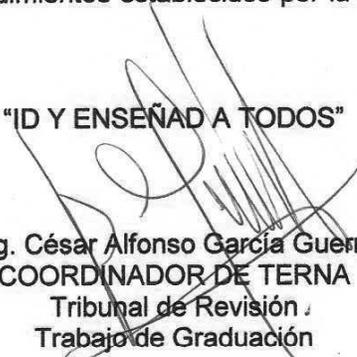
Siguiendo los procedimientos de revisión interna de la Escuela de Ingeniería Química, los Miembros de la Terna han procedido a **APROBARLO** con el siguiente título:

EXTRACCIÓN Y CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DE LA FRACCIÓN COLORANTE DE LA SEMILLA DEL AGUACATE (Persea americana Miller) A NIVEL LABORATORIO

El Trabajo de Graduación ha sido asesorado por la Ingeniera: **Telma Cano Morales**.

Habiendo encontrado el referido informe final del trabajo de graduación **SATISFACTORIO**, se autoriza al estudiante, proceder con los trámites requeridos de acuerdo a las normas y procedimientos establecidos por la Facultad para su autorización e impresión.

"ID Y ENSEÑAD A TODOS"


Ing. César Alfonso García Guerra
COORDINADOR DE TERNA
Tribunal de Revisión
Trabajo de Graduación



ESCUELA DE
INGENIERIA QUIMICA

C.c.: archivo

PROGRAMA DE INGENIERÍA QUÍMICA
ACREDITADO POR
Agencia Centroamericana de Acreditación de
Programas de Arquitectura y de Ingeniería
Período 2009 - 2012



ACAAI

Agencia Centroamericana de Acreditación de
Programas de Arquitectura y de Ingeniería



El Director de la Escuela de Ingeniería Química de la Universidad de San Carlos de Guatemala, luego de conocer el dictamen del Asesor y de los Miembros del Tribunal nombrado por la Escuela de Ingeniería Química para revisar el Informe del Trabajo de Graduación de la estudiante, **EVA ISABEL GARCÍA RAMÍREZ** titulado: **"EXTRACCIÓN Y CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DE LA FRACCIÓN COLORANTE DE LA SEMILLA DEL AGUACATE (PERSEA AMERICANA MILLER) A NIVEL LABORATORIO"**. Procede a la autorización del mismo, ya que reúne el rigor, la secuencia, la pertinencia y la coherencia metodológica requerida.

"Id y Enseñad a Todos"

Ing. Víctor Manuel Monzón Valdez
DIRECTOR
Escuela de Ingeniería Química



Guatemala, octubre de 2012

Cc: Archivo
VMMV/ale



El Decano de la Facultad de Ingeniería de la Universidad de San Carlos de Guatemala, luego de conocer la aprobación por parte del Director de la Escuela de Ingeniería Química, al trabajo de graduación titulado: **EXTRACCIÓN Y CARACTERIZACIÓN FISCOQUÍMICA DE LA FRACCIÓN COLORANTE DE LA SEMILLA DEL AGUACATE (PERSEA AMERICANA MILLER) A NIVEL LABORATORIO**, presentado por la estudiante universitaria: **Eva Isabel García Ramírez**, autoriza la impresión del mismo.

IMPRÍMASE

Ing. Murphy Olympo Paiz Recinos
Decano



Guatemala, noviembre de 2012

/gdech

ACTO QUE DEDICO A:

Dios Padre	Mi creador.
Jesucristo	Mi salvador.
Mis padres	Enrique García Girón y Eva Ramírez de García, guías sabios en mi vida.
Mi esposo	Benny Meléndez, tu amor comprensión y aliento me acompañan en todo momento.
Mis hijos	Abner Francisco, Eva Rebeca y Benjamín Natanael Meléndez García, que sea de inspiración en su vida.

AGRADECIMIENTOS A:

- Dios** Por quien todo existe y por cuya voluntad culminé mi carrera dándome todos los medios y la fortaleza necesarios en todo momento.
- Mis padres** Enrique García Girón y Eva Ramírez de García, sin ellos no habría sido posible este logro.
- Mi esposo** Benny Meléndez por su apoyo incondicional.
- Mis hermanos** Enrique y Edson García Ramírez por animarme con fe.
- Mis suegros** Benjamín Meléndez y Aracely Arenales de Meléndez por el amor, paciencia y cuidado de mis hijos durante la realización de este trabajo.
- Mis cuñadas** Maribel Román de García, Cynthia Meléndez y Melissa Valdéz de García, cuñados Daniel Meléndez y Samuel Meléndez, tía Elizabeth Hernández de Santizo y sus hijos Daniel, Erick y Estefani Santizo, cariñosamente.
- Joel y Sivia García** Por su apoyo en oración.
- Inga. Telma Cano** Por la confianza, apoyo, asesoría, paciencia y consejos durante el desarrollo de este trabajo.

Ing. César García

Por sus importantes aportes y la revisión del trabajo.

Ing. Mario Mérida

Por su confianza, asesoría, revisión y consejos para la optimización este trabajo.

Ing. Jorge Godínez

Por su ayuda en la organización y ejecución de este trabajo.

**Ingenieras, Adela
Marroquín y Natalia
Espinal**

Por su apoyo en la realización de este trabajo.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES	V
LISTA DE SÍMBOLOS	VII
GLOSARIO	IX
RESUMEN.....	XI
OBJETIVOS.....	XII
INTRODUCCIÓN.....	XVII
1. ANTECEDENTES	1
2. MARCO TEÓRICO	5
2.1. Aspectos generales acerca del aguacate.....	5
2.1.1. Composición química y usos medicinales.....	6
2.1.2. Características macroscópicas de las semillas de aguacate	7
2.1.3. Características microscópicas de las semillas	10
2.1.3.1. Microscopía electrónica de barrido.....	11
2.1.4. Análisis proximal y fitoquímico.....	15
2.1.5. Comercio del aguacate.....	17
2.2. Lixiviación y operaciones unitarias.....	18
2.3. Operaciones unitarias del proceso de obtención de colorante	24
2.4. Colorantes.....	32
2.4.1. Clasificación de los colorantes.....	33
2.4.2. Colorantes naturales.....	34
2.4.3. Reacciones de los colorantes naturales ante diferentes factores.....	41

CONCLUSIONES.....	77
RECOMENDACIONES.....	79
BIBLIOGRAFÍA	81
APÉNDICES.....	87

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

FIGURAS

1.	Semilla de aguacate (cv. Hass). (a) Cubierta seminal, (b) cotiledones, (c) eje embrionario. Barra = 1 cm.....	9
2.	Microscopía óptica de la cubierta seminal de semilla de aguacate cv Hass. sin extraer. (a) células de endocarpio, (b) esclerénquima, (c) células de taninos (d) parénquima. Barra = 0,05 mm. Corte 1 μ m de espesor, inclusión en resina Spurr y tinción con azul de toluidina.....	12
3.	Microscopía óptica del cotiledón de semilla de aguacate cv. Hass sin extraer. (a) gránulos de almidón, (b) glóbulos de grasa. Barra = 0,05 μ m de espesor, inclusión en resina Spurr y tinción con azul de toluidina.....	13
4.	Microscopía óptica del eje embrionario de semilla de aguacate cv. Hass. Sin tratamiento de extracción. (a) Gránulos de almidón, (b) glóbulos de grasa. Barra = 0,05 mm. Corte 1 μ m de espesor, inclusión en resina Spurr y tinción con azul de toluidina.....	14
5.	Microscopía electrónica de barrido. Cotiledón de semilla de aguacate cv. Hass. Sin extraer. (a) Gránulos de almidón.....	15
6.	Diagrama de lixiviación en una sola etapa.....	22
7.	Lixiviación en una sola etapa.....	24
8.	Tipos de cuchillas.....	25
9.	Secador de bandejas.....	28
10.	Diagrama de bloques del proceso de extracción del colorante de la semilla del aguacate.....	30

11.	Diagrama de flujo para el proceso de extracción del colorante de la semilla del aguacate.....	31
12.	Nomenclatura de equipos y corrientes del proceso.....	32
13.	Clorofila.....	35
14.	Carotenoides a) betacaroteno y b) licopeno.....	36
15.	Antocianina.....	37
16.	a) flavona, b) flavonol y c) flavonona	38
17.	Reacción 1. Reacción del malvidín-3 cuando el pH alcanza valores elevados.....	43
18.	Distribución de las distintas estructuras en función del pH (malvidín glucósido: 25 °C). AH = catión rojo, B = base carbinol incolora, C = calcona incolora, A = base quinoidal azul	44
19.	Reacción de malvidina a pH elevados, seguida de la reacción de hidrólisis de la α -dicetona a ácido protocatecuico	45
20.	Producto de la adición del bisulfito a la antocianina.....	46

TABLAS

I.	Análisis proximal de la semilla de aguacate variedad Hass.....	16
II.	Análisis fitoquímico de la semilla de aguacate variedad Hass.....	16
III.	Temperatura de extracción ebullición de los coadyuvantes.....	58
IV.	Características fisicoquímicas de la fracción colorante de la semilla de aguacate oxidada fresca, lixiviado con agua	69
V.	Tamizaje fitoquímico de la fracción colorante de la semilla de aguacate.....	70
VI.	Cromatografía de capa fina de la fracción colorante de la semilla de aguacate.....	70
VII.	Rendimiento porcentual promedio de la fracción colorante de la semilla de aguacate	71

LISTA DE SÍMBOLOS

Símbolo	Significado
cm	Centímetro
K_a	Constante de equilibrio
c	Constante dieléctrica
E₁	Corrientes efluentes
R₁	Corrientes efluentes
R_o	Disolvente de lixiviación
A	Disolvente puro
°C	Grados centígrados
GL	Grados de libertad
G	Gramo
λ_{max}	Longitud de onda
M₁	Mezcla global

μm	Micrómetro
mL	Mililitros
Mm	Milímetro
N	Número de tratamientos
w/v	Peso/volumen
%	Porcentaje
pH	Potencial de hidrógeno
Rpm	Revoluciones por minuto
F	Significancia
B	Sólido acarreador
F	Sólido por lixiviar
C	Soluto soluble
UV	Ultra violeta
v/v	Volume/volumen

GLOSARIO

- Esclerénquima** Tejido de sostén de algunas plantas formado por células muertas a la madurez, cuyas paredes secundarias están engrosadas por lo que son muy gruesas y duras. Su nombre proviene del griego *escleros*, duro y *enchyma*, sustancia.
- Mesocarpio** En botánica, el mesocarpio es la capa intermedia del pericarpio, esto es, la parte del fruto situada entre endocarpio y epicarpio. Parte de la fruta que se consume normalmente, y es resultado de la transformación de la pared ovárica de la flor, por lo que normalmente envuelve al endocarpio, que a su vez envuelve a las semillas.
- Parénquima** En botánica, se denomina parénquima al tejido vegetal constituido por células de forma aproximadamente esférica o cúbica y con espacios separación. Están poco especializadas. Constituyen el tejido fundamental de la planta. Se localizan en todos los órganos vegetales, llenan espacios libres que dejan otros órganos y tejidos. Sus células son poligonales y las paredes celulares son flexibles y delgadas de celulosa.
- Pericarpio** En botánica, la parte del fruto que recubre su semilla y consiste en el ovario fecundado. En el pericarpio pueden distinguirse tres capas, de fuera a dentro son: epicarpio, mesocarpio y endocarpio.

- Sustrato** En bioquímica, un sustrato es una molécula sobre la que actúa una enzima, éstas catalizan reacciones químicas que involucran al sustrato o los sustratos, éste se une al sitio activo de la enzima, y se forma un complejo enzima-sustrato. El sustrato por acción de la enzima es transformado en producto y liberado del sitio activo, quedando para recibir otro sustrato.
- Tegumento** Tejido que cubre ciertos órganos de las plantas, en especial los óvulos y las semillas, y ésta queda recubierta por un tegumento de tacto aterciopelado.
- Testa** La cubierta de la semilla o testa la protege de muchas de las inclemencias del medio ambiente.
- Traqueidas** Son células conductoras de agua y sales. Fusiformes, no perforadas, agrupan las punteaduras en los polos. Al menos sobre el papel son menos eficientes en el transporte de agua que las traqueas, y son más primitivas evolutivamente hablando que ellas.

RESUMEN

Extraer y caracterizar fisicoquímicamente la fracción colorante de la semilla de aguacate, a nivel laboratorio, fue el principal propósito del presente trabajo de graduación. El procedimiento utilizado fue la lixiviación por maceración dinámica con reflujo, utilizando como solvente el agua y como coadyuvantes soluciones de etanol (35, 70 y 95% v/v) y soluciones de sulfito de sodio (1 y 2% v/v). La semilla fue utilizada en tres presentaciones: sin oxidar fresca, oxidada fresca y oxidada seca. Para todos los casos la relación semilla de aguacate/solvente fue de 1:10 (w/v).

La temperatura de lixiviación fue la temperatura de ebullición respectiva para el agua y cada coadyuvante a una presión de 640 mmHg y la duración del proceso de dos horas. Al realizar el análisis estadístico se observa que la densidad y el índice de refracción que se obtienen cambian significativamente al cambiar el coadyuvante y el tipo de muestra. El mayor rendimiento se obtiene al utilizar la solución de sulfito de sodio al 1% y la semilla seca oxidada, un rendimiento inferior se obtiene al usar la solución de sulfito de sodio al 2% y la semilla seca oxidada. Los rendimientos menores se obtienen al utilizar las soluciones de etanol al 70% y 95% en las tres presentaciones de semilla de aguacate y rendimientos intermedios al utilizar soluciones de etanol al 35% y agua. Al realizar el tamizaje fitoquímico de los extractos colorantes líquidos de la semilla de aguacate en todas sus presentaciones, se identificó la presencia de taninos y flavonoides.

OBJETIVOS

General

Extraer y caracterizar fisicoquímicamente la fracción colorante de la semilla de aguacate a nivel laboratorio.

Específicos

1. Extraer y caracterizar fisicoquímicamente la fracción colorante de la semilla de aguacate seca oxidada en función de la concentración de soluciones de etanol y soluciones alcalinas de sulfito de sodio.
2. Extraer y caracterizar fisicoquímicamente la fracción colorante de la semilla de aguacate fresca oxidada en función de la concentración de soluciones de etanol y soluciones alcalinas de sulfito de sodio.
3. Extraer y caracterizar fisicoquímicamente la fracción colorante de la semilla de aguacate fresca sin oxidar en función de la concentración de soluciones de etanol y soluciones alcalinas de sulfito de sodio.
4. Determinar el porcentaje de rendimiento del extracto colorante obtenido en función del porcentaje de humedad de la semilla seca oxidada y fresca oxidada.

HIPÓTESIS

Hipótesis general

Es factible obtener y caracterizar el extracto colorante de la semilla del aguacate en función de la concentración de soluciones de etanol y soluciones alcalinas de sulfito de sodio.

Hipótesis estadística

Hipótesis nula

No existe diferencia significativa en el rendimiento del extracto colorante obtenido utilizando diferente concentración de coadyuvante.

Hipótesis alternativa

Existe diferencia significativa en el rendimiento del extracto colorante obtenido utilizando diferente concentración de coadyuvante.

Hipótesis nula

No existe diferencia significativa en el rendimiento del extracto colorante obtenido de la semilla de aguacate con diferente porcentaje de humedad.

Hipótesis alternativa

Existe diferencia significativa en el rendimiento del extracto colorante obtenido de la semilla de aguacate con diferente porcentaje de humedad.

Hipótesis nula

No existe diferencia significativa en las propiedades fisicoquímicas del extracto colorante obtenido de la semilla fresca de aguacate con diferente grado de oxidación.

Hipótesis alternativa

Existe diferencia significativa en las propiedades fisicoquímicas del extracto colorante obtenido de la semilla fresca de aguacate con diferente grado de oxidación.

INTRODUCCIÓN

Actualmente, en el altiplano guatemalteco se utiliza el extracto colorante obtenido de la semilla de aguacate para teñir artesanalmente fibras naturales. Mejorar el proceso de obtención de extracto de tal forma que llegue a ser tan seguro, confiable, eficiente y económico como sea posible, sugiere varias etapas de transformación y selección de las condiciones bajo las cuales ocurrirán dichas transformaciones, en cuyas primeras etapas se puede considerar la extracción y caracterización de la fracción colorante de la semilla de aguacate, principal objetivo del presente trabajo de graduación.

El aguacate, *Persea americana* Miller, fruta de muchas propiedades, alto valor nutricional y exquisito sabor, es un árbol frutal cultivado desde tiempo precolombino y su fruto puede clasificarse en tres clases: guatemalteca, antillana y mexicana. Es una baya con mesocarpio y endocarpio carnosos que contiene una sola semilla, la cual puede representar alrededor de 15% del peso en relación al fruto.

A la semilla de aguacate se le atribuyen algunas propiedades de tipo farmacológicas debido a la presencia de ácidos grasos, compuestos polifenólicos y esteroides, y ha sido utilizada contra padecimientos de dolores musculares y parásitos. Entre los usos no medicinales se puede señalar el empleo de la semilla para alimento de animales, y hasta la aparición de tintas indelebles, el jugo de la semilla fue extensamente empleado para marcar la ropa en vista de la oxidación que sufre este producto por la acción del aire.

Los compuestos responsables del color en los alimentos son un grupo muy variado en estructuras y propiedades físicas y químicas. Estos compuestos pueden clasificarse en dos grupos por razones teóricas, el primero incluye: carotenoides, antocianinas, betalainas, caramelo, colorantes artificiales y lacas. El segundo: mioglobina, clorofila y sus derivados.

La extracción del colorante se realizó a nivel laboratorio, obteniendo así información para diseñar procedimientos y mejores condiciones de operación a nivel planta piloto y luego a nivel industrial.

Los procesos para extraer estos compuestos se conocen con diferentes nombres. Se hará referencia al proceso de lixiviación, que es una de las operaciones unitarias más antiguas, utilizadas en la extracción sólido-líquido. Se utilizaron también otras operaciones unitarias como: secado y evaporación; y operaciones en las que intervienen partículas sólidas como: reducción de tamaño, tamizado y separaciones mecánicas.

Se utilizaron como solventes: soluciones de etanol al 35, 70 y 95% en volumen y de sulfito de sodio al 1 y 2%. La semilla de aguacate fue utilizada en diferentes presentaciones: seca oxidada (humedad menor al 10%), fresca oxidada y no oxidada (humedad entre 40 y 60%)

El colorante de la semilla de aguacate puede utilizarse en diferentes productos, entre las cuales se mencionan: textiles, alimentos, cosméticos, medicinas, tizas y crayones.

1. ANTECEDENTES

En el marco del proceso de investigación que se realiza en la Sección de Química Industrial del Centro de Investigaciones de Ingeniería, se tienen proyectos de investigación en extractos vegetales como aceites esenciales, oleorresinas, taninos y colorantes. Específicamente en la temática de colorantes naturales, se han realizado los siguientes trabajos de investigación:

En 1987 Dominguez M., de la Facultad de Ingeniería de la Universidad de San Carlos de Guatemala, realizó la investigación del trabajo de graduación titulado: Extracción de los pigmentos colorantes del tipo xantofilas contenidos en la flor de Tagetes erecta (Marigold), en esta investigación se determinó el contenido de xantofilas totales en la flor de Tagetes erecta. Se utilizó como método de extracción la saponificación en frío y en caliente. Se obtuvo que el método de saponificación en frío da resultados más altos, siendo éstos de $11\,470 \pm 6\,262,02$ mg de xantofilas por kg de flor, además se necesitan 4,795 kg de flor por tonelada de alimento para obtener una coloración óptima de la yema de huevo. Se recomienda utilizar el método de saponificación en frío con un tiempo de saponificación de 18-19 horas. Las pruebas que se utilizaron para determinar el contenido de xantofilas totales fueron la cromatografía en columna y la espectrofotometría.

Donado Miranda, asesorado por la Inga. Telma Cano, en mayo del 2000 en el Centro de Investigaciones de la Facultad de Ingeniería de la USAC, realizó la investigación del trabajo de graduación titulado: Extracción de carotenoides de la caléndula para su utilización como colorante natural en productos de consumo humano. La extracción se realizó a nivel laboratorio, utilizando dos

métodos de extracción, con el fin de determinar el método donde se obtiene el mejor rendimiento. La diferencia entre ambos métodos fue la utilización de diferentes solventes. Se usaron muestras de 10 g de flores secas, con una aproximación de ± 0.05 gramos, realizando 5 repeticiones para cada método.

Los resultados obtenidos tuvieron una diferencia significativa. Con el método A se obtuvo un rendimiento promedio de 16,5% y con el método B 2,1%. Para evaluar la homogeneidad en la composición de cada extracto, se obtuvieron los espectros de absorción representativos de cada método, entre el rango de las longitudes de onda de 400 a 540 nm, utilizando 1 g de extracto seco en 50 mL de éter etílico, en donde se observó diferencias no significativas entre los 2 métodos.

En el 2001, el Ing. José Eduardo Calderón en el Centro de Investigaciones de la Facultad de Ingeniería de la USAC, ejecutó el proyecto FODECYT 13-99, Extracción del colorante acuoso, a partir de los rechazos de exportación de la producción nacional de dos variedades de pitahaya, a nivel de planta piloto. En este proyecto se evaluó la obtención del extracto acuoso de pitahaya por cuatro diferentes métodos y la factibilidad de industrialización del extracto a partir de los rechazos de la exportación. Las variables que se manejaron fueron: tiempo de extracción, tamaño de lote, temperatura de extracción, relación solvente-fruto y tiempo de maceración. Se evaluó el tiempo de maceración, de 1, 2 y 3 días, a una temperatura de 25 °C y 7 °C, dando mejores resultados la maceración de 1 día a una temperatura de 7 °C. Se utilizaron lotes de 5 y 10 kg de fruta. Para el análisis de cada una de estas variables se efectuaron 3 corridas modificando la variable en cuestión y dejando las demás fijas, se determinaron así las condiciones óptimas de extracción. Se efectuaron los análisis fisicoquímicos necesarios para tipificar y evaluar la calidad del extracto. Mediante análisis de espectrofotometría se determinó que el colorante acuoso de la pulpa de

pitahaya, se asemeja más al colorante sintético rojo FD&C No. 3, por lo que se puede usar en sustitución de éste.

Del Cid Vásquez, asesorado por la Inga. Telma Cano, en marzo de 2004 en el Centro de Investigaciones de la Facultad de Ingeniería de la USAC, realizó el estudio del trabajo de graduación titulado: Extracción a nivel laboratorio, de los pigmentos colorantes del tipo flavonoides contenidos en la flor del subín (*Acacia farnesiana* L. Willd) proveniente de un bosque silvestre guatemalteco, en el mencionado estudio se utilizaron tres diferentes solventes: metanol, etanol y acetona. Los resultados obtenidos demostraron que con la acetona se obtiene un mayor rendimiento promedio. Se determinó que cromatográficamente el solvente que ofreció un extracto con el mayor número de pigmentos colorantes del tipo flavonoides fue el metanol, seguido del etanol y por último la acetona. Con los tres análisis, se logró determinar la presencia de flavonoides, tales como hiperósido, rutina, quercetina.

Ac Santa Cruz, asesorado por la Inga. Telma Cano, en noviembre de 2004, en el Centro de Investigaciones de la Facultad de Ingeniería de la USAC, realizó el estudio del trabajo de graduación titulado: Extracción a nivel de laboratorio de aceite esencial crudo de pericón (*Tagetes lucida* Cav), y utilización del desecho sólido para la extracción del colorante natural, para su uso en el teñido de fibras naturales. Los solventes utilizados fueron: acetona, metanol, etanol, además se utilizaron reacciones coloridas, para identificar el tipo de colorante, así como cromatografía en capa fina y espectro de absorción.

La Inga. Merida Mere, asesorado por la Inga. Telma Cano, en abril de 2008, en el Centro de Investigaciones de la Facultad de Ingeniería de la USAC, realizó el estudio del trabajo de graduación titulado: Extracción y caracterización fisicoquímica del tinte natural obtenido del exocarpo del coco (*cocos nucifera*),

como aprovechamiento del desecho de fuentes comerciales. Los solventes utilizados fueron agua, etanol al 50% (v/v) y etanol al 95% (v/v) con 3 repeticiones para cada una, resultando 9 extracciones en total con 3 repeticiones para cada una, resultando 9 extracciones en total.

El tamaño del tratamiento de lixiviación con reflujo fue constante, en función de la relación exocarpo de coco fresco/solvente de 1:10 (w/v), con tiempo de extracción de 6 horas y a temperatura de ebullición de la solución, 94 °C para el agua, 89 °C para el etanol al 50% (v/v) y 77°C para el etanol al 95% (v/v), a presión atmosférica de 640 mmHg. El mayor valor de rendimiento fue de 18,63% utilizando como solvente Etanol 95% y el menor valor de rendimiento fue de 7,63% utilizando como solvente agua.

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Aspectos generales acerca del aguacate

Guatemala es un país predominantemente agrícola debido a que la mayoría de la población depende de actividades propias de la agricultura. A pesar de ello existe un marcado déficit en la dieta alimentaria de un gran número de guatemaltecos. El aguacate como fruto es un producto hortícola comestible y de gran calidad energética para la dieta humana. En las últimas décadas ha llegado a convertirse en el tercer cultivo tropical, después del banano y los cítricos por ser buen complemento alimenticio para la dieta humana. La importancia de la fruta radica en las características nutritivas que posee, ya que tiene un alto contenido de calorías, (10 g de pulpa proporcionan 150 a 300 calorías), grasa natural (5-30%), proteínas (1-4,6%), hidratos de carbono (0,3 al 4%), vitaminas (A, B, C, D, E y K) y minerales (5,31 sólo de calcio, fósforo y hierro).

El aguacate es una baya con mesocarpio y endocarpio carnoso que contiene una sola semilla; pertenece a la familia de las lauráceas. Botánicamente es conocido como *Persea americana* Miller o *Persea gratissima* G., pero realmente las variedades comerciales por su fruto pertenecen a dos especies distintas *gratissima* y *drymifolia*. La primera comprende a los aguacates de raza guatemalteca y de la raza antillana, mientras que la segunda a los de raza mexicana. El aguacate se adapta desde cero hasta 9 000 pies (2 743 metros) sobre el nivel del mar, y se aclimata de la manera siguiente:

- Clima frío: la raza mexicana
- Clima templado: la guatemalteca
- Clima cálido: la antillana

Los frutos recién fecundados en todas las razas contienen tanino, por lo que son astringentes. Conforme se desarrolla el óvulo fecundado va perdiendo dicha característica y en el caso del criollismo guatemalteco y de la raza antillana, tal característica se pierde al sazonar el fruto. En la raza mexicana la astringencia persiste aun en el fruto maduro y las hojas al estrujarse despiden un olor anisado. Aquellos materiales que posean mayor cantidad de tanino en sus frutos como en su área vegetativa, tendrán más resistencia a plagas y enfermedades.

2.1.1. Composición química y usos medicinales

En cuanto a las partes del aguacate y su composición química se puede decir que contiene los siguientes principios activos:

- Mesocarpo: abundantes lípidos, ácidos grasos insaturados: oléico, linoléico, linolénico, palmítico, esteárico, cáprico, mirístico; insaponificable, rico en esteroides, escualeno, abundantes hidrocarburos alifáticos insaturados, alcoholes alifáticos y terpénicos, tocoferol, aminoácidos, proantocianidoles, camitina, carotenoides, tiamina, riboflavina, niacina, ácido ascórbico, y sales minerales: fósforo y hierro.
- Hojas: abundante aceite esencial: estragol, alfa y beta pineno, cineol, transnetol, alcanfor, limoneno. Dopamina, serotonina, flavonoides derivados del grupo quercetol, perseita, persiteol, abacatina.

- Semilla: ácidos grasos insaturados, abundante tocoferol. El tamizaje fitoquímico contiene: saponinas, esteroides insaturados, cardenólicos, bufadienólicos, flavonoides, leuco antocianinas, taninos y polifenoles.

Además, se le atribuye al aguacate usos medicinales como: la decocción de la corteza y hojas se utiliza para tratar cefalea, catarro, malaria, reumatismo y problemas gastrointestinales; la pulpa del fruto se usa como ungüento para tratar tumores. La semilla se usa contra la diarrea y caspa; el aceite en afecciones del cuero cabelludo. La cáscara del fruto se usa contra helmintos y la raíz se usa para tratar golpes.

2.1.2. Características macroscópicas de las semillas de aguacate

Los vegetales tienen una serie de elementos apreciables, al ser observadas a ojo descubierto, con una lupa de mano o con microscopio óptico, ya sea que se encuentre entera o molida. Muchos de estos elementos le son propios y característicos lo cual permiten su identificación. Debido a que se estudian semillas de desecho de diferentes lugares de origen no es posible establecer la variedad a que pertenece. Sin embargo, como la parte utilizada es la semilla se establecen las características macroscópicas y microscópicas de las mismas.

Se realiza teniendo en cuenta su morfología externa y sus secciones transversales y longitudinales. La morfología externa comprende:

- Tegumento: a veces formado por dos partes bien distintas una externa, la testa, dura y lignificada y la otra interna el tegmen, menos lignificada que la anterior.

- Reservas: las sustancias de reserva pueden estar acumuladas en el endosperma, cotiledones o en el perisperma y pueden ser: almidón, aceites, proteínas, etc.
- Embrión: posee valor relativo para la diagnosis, se toma encuentra la forma, (recto curvo); número de cotiledones tamaño y localización.

En el aguacate el pericarpio está formado de tres capas: exocarpio (cáscara), mesocarpio (pulpa) y endocarpio junto a la cubierta seminal. El endocarpio se compone de pocas capas de parénquima de células aplanadas tangencialmente que a menudo se adhieren a la testa.

Las células del parénquima, en las semillas, almacenan almidón (gránulos fundidos o agrietados en cotiledones y en el endospermo), proteínas (esferas o cuerpos pequeños e irregulares), o aceites (elaioplastos o en esferosomas). El almidón después de tinción con yodo presenta una coloración azul a violeta, en cambio las proteínas se tiñen de color amarillo. Los lípidos se tiñen de rojo con el Sudán III y el Sudán IV y se ennegrecen con el ácido ósmico y la intensa osmiofilidad indica alto grado de insaturación. Cuando hay taninos, éstos se tiñen de color amarillo, rojo o café con safranina, es típico encontrarlos en color fuerte y en gran cantidad y pueden estar localizados en células alargadas llamadas sacos de taninos.

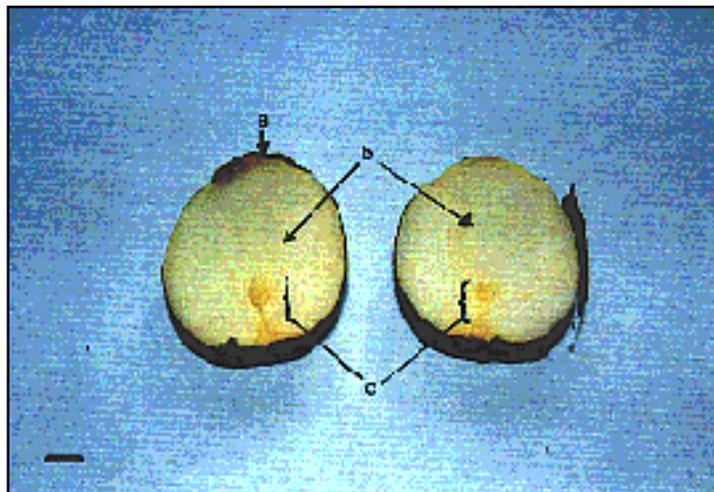
La testa madura consiste de epidemis externa, células de taninos y remanentes del xilema cuyos elementos conductores, las traqueidas, pueden contener cantidades considerables de células ricas en azúcares, grasas o proteínas. El esclerénquima de la testa es abundante con esclérides (también llamadas células pétreas) de varios tamaños, estas células son generalmente alargadas, pueden formar masas continuas en pequeños grupos o solas

alrededor de otras células, son de pared gruesa, secundaria y a menudo lignificada. Se distinguen dos formas principales: las esclérides (varían en forma) y las fibras (que son generalmente largas).

El embrión contiene nutrientes de reserva, orgánicos e inorgánicos, localizados alrededor del embrión o en sus mismos tejidos; contiene aproximadamente el 50% del aceite de la semilla y antes de germinar presenta una situación citológica que indica inactividad, esto es la presencia de proteínas y lípidos de reserva.

Macroscópicamente la semilla de aguacate está compuesta de tres capas (figura 1) correspondientes a cubierta seminal (a), cotiledones (b) y eje embrionario (c).

Figura 1. **Semilla de aguacate (cv. Hass). (a) Cubierta seminal, (b) cotiledones, (c) eje embrionario. Barra = 1 cm**



Fuente: GARCIA, José A. *Estructura de la semilla de aguacate y cuantificación de la grasa extraída por diferentes técnicas*. p. 24.

2.1.3. Características microscópicas de las semillas

Con frecuencia las células de la cubierta seminal se hallan lignificadas, en algunas especies el tegumento o cubierta de la semilla, se visualiza con nitidez. No hay un patrón general de estructura, las características son peculiares de las especies.

Para el análisis de los tejidos de reserva del embrión, hay que auxiliarse con el estudio de la identificación de las sustancias de reserva, por ejemplo identificar almidón, aleuronas, grasas o aceites, cristales y, paredes hemicelulósicas.

En las observaciones por microscopía óptica de la semilla de aguacate se encuentran las siguientes:

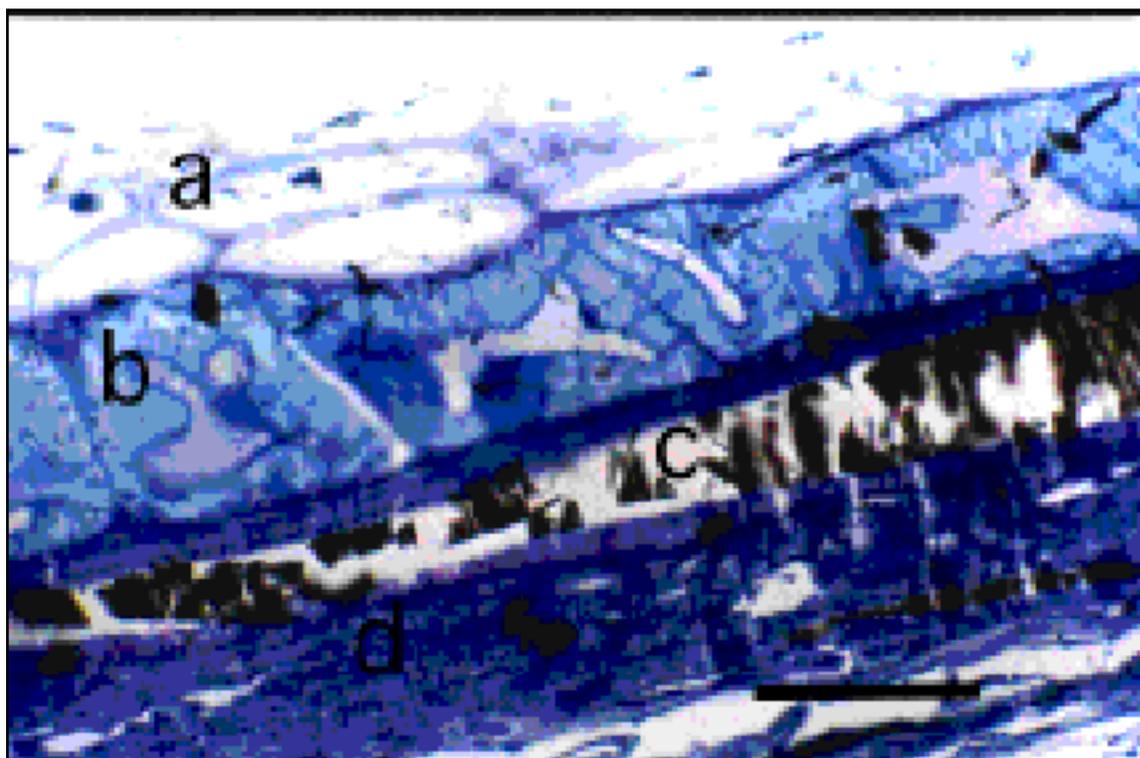
- **Cubierta seminal:** en las observaciones bajo microscopio compuesto, de los tejidos testigo (sin tratamiento de extracción), se distinguió que la cubierta seminal (figura 2) consta de algunas células aplanadas tangencialmente que provienen probablemente del endocarpio (a); esclerénquima (b), bajo el cual existen sacos de taninos (c) y por último el parénquima (d).
- **Cotiledones:** en relación a los cotiledones (figura 3), las células del parénquima se observaron llenas de almidón (a) (gránulos de color azul violeta) y unas pocas gotas de grasa (b) (esferas de color ámbar) y probablemente proteínas (cuerpos irregulares de tamaño pequeño en color azul).

- Eje embrionario. en el eje embrionario (figura 4) los gránulos de almidón (a) fueron más pequeños (aproximadamente 3 veces) y en menor cantidad que en los cotiledones (gránulos de color azul) pero la grasa (b) (glóbulos de color ámbar) se observó en estructuras más grandes y en mayor cantidad.

2.1.3.1. Microscopía electrónica de barrido

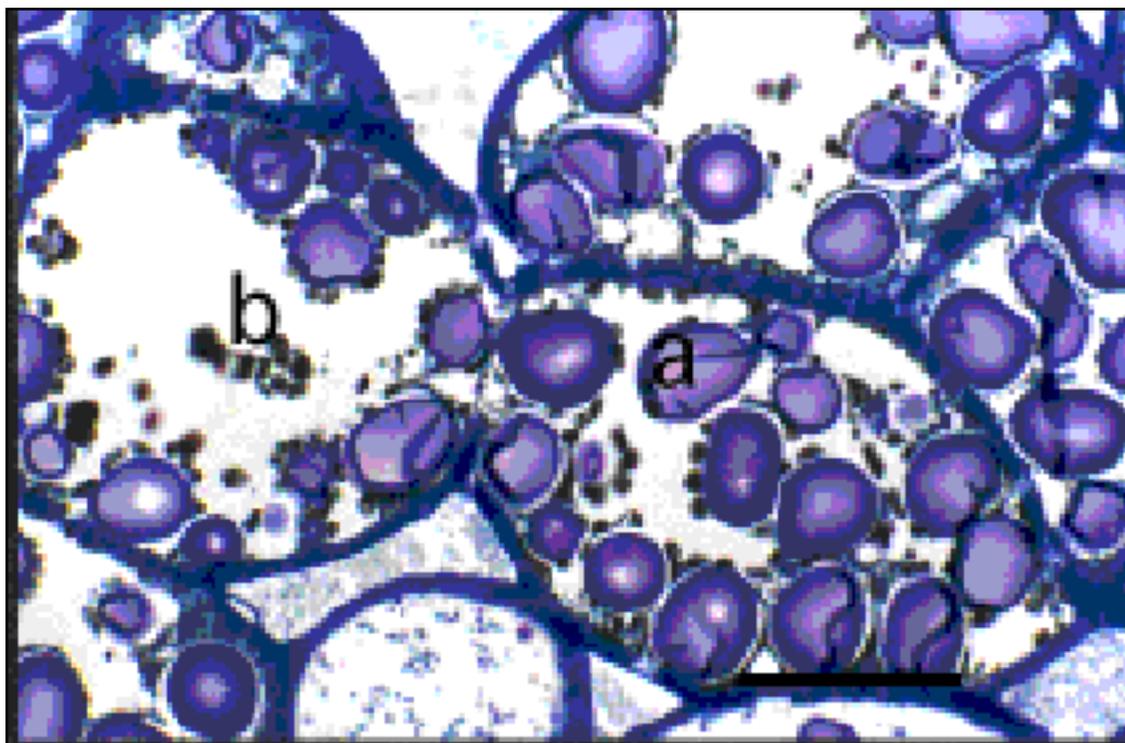
- Cubierta seminal: en las observaciones al microscopio electrónico de barrido se notó en las cubiertas seminales gran cantidad de gránulos de almidón sobre la superficie de ésta con la particularidad de que estos no son redondos sino irregulares. En una observación transversal se encontró la capa del parénquima compacta.
- Cotiledones: se observaron en los cotiledones (figura 5) algunas estructuras redondeadas de aproximadamente 15 μm de diámetro con peciolo, tal vez se trata de glándulas de aceite. Otras estructuras de entre 5 y 15 μm presumiblemente gránulos de almidón.

Figura 2. Microscopía óptica de la cubierta seminal de semilla de aguacate cv. Hass. sin extraer. (a) células de endocarpio, (b) esclerénquima, (c) células de taninos (d) parénquima. Barra = 0,05 mm. Corte 1 μ m de espesor, inclusión en resina Spurr y tinción con azul de toluidina



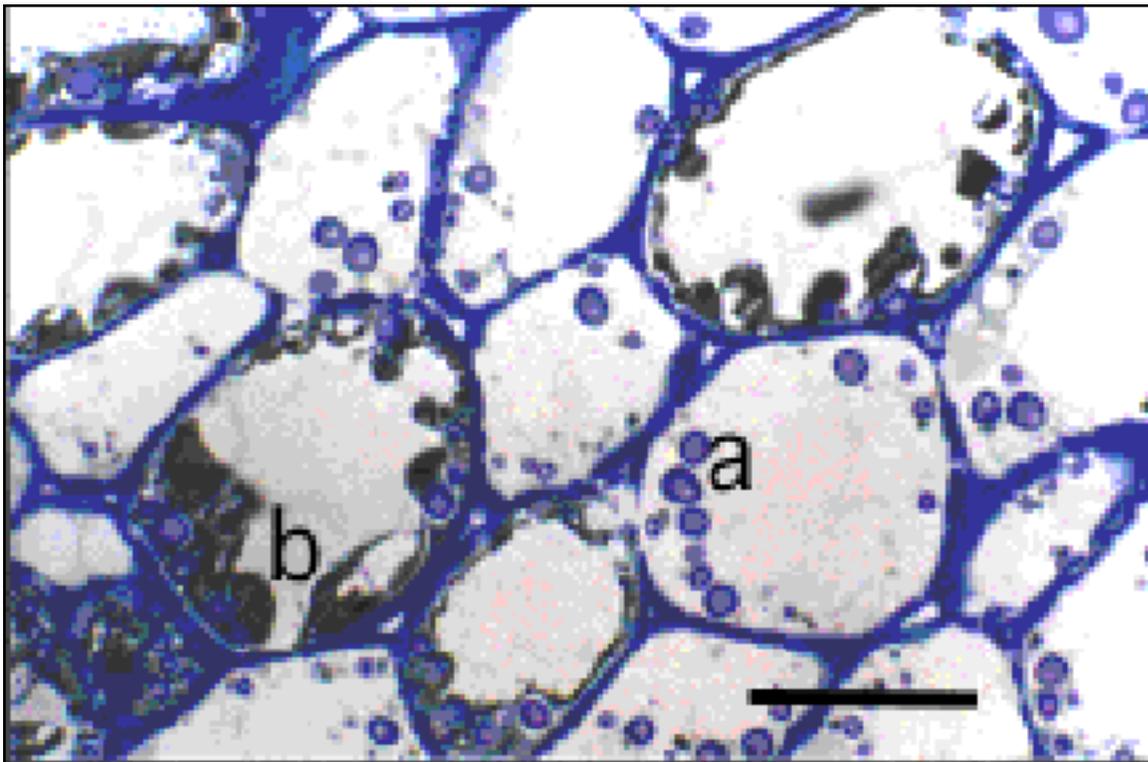
Fuente: GARCIA, José A. *Estructura de la semilla de aguacate y cuantificación de la grasa extraída por diferentes técnicas*. p. 28.

Figura 3. Microscopía óptica del cotiledón de semilla de aguacate cv. Hass sin extraer. (a) gránulos de almidón, (b) glóbulos de grasa. Barra = 0.05 μm de espesor, inclusión en resina Spurr y tinción con azul de toluidina.



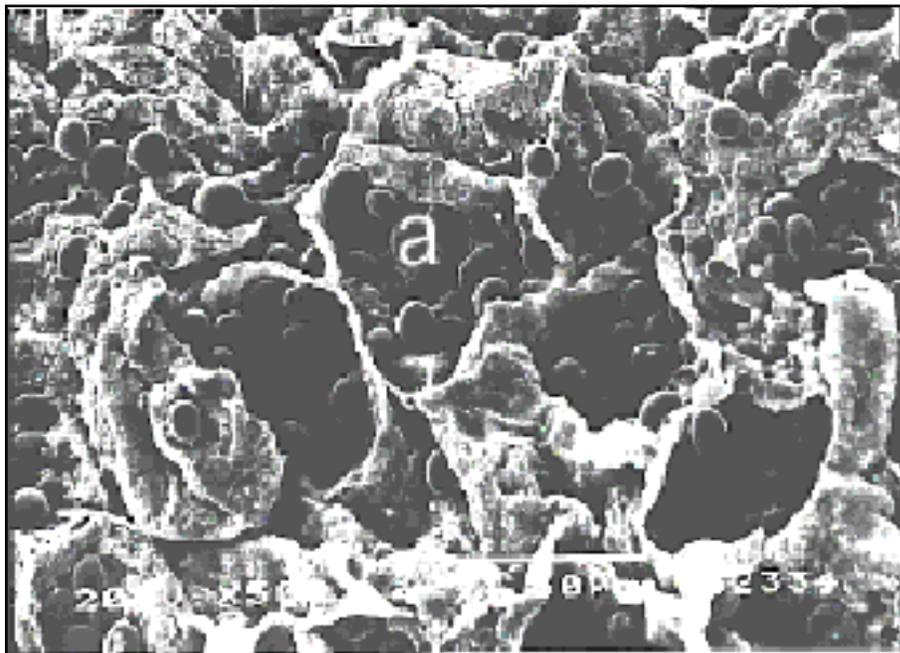
Fuente: GARCIA, José A. *Estructura de la semilla de aguacate y cuantificación de la grasa extraída por diferentes técnicas*. p. 28.

Figura 4. Microscopía óptica del eje embrionario de semilla de aguacate cv. Hass. Sin tratamiento de extracción. (a) Gránulos de almidón, (b) glóbulos de grasa. Barra = 0,05 mm. Corte 1 μm de espesor, inclusión en resina Spurr y tinción con azul de toluidina.



Fuente: GARCIA, José A. *Estructura de la semilla de aguacate y cuantificación de la grasa extraída por diferentes técnicas*. p. 30.

Figura 5. **Microscopía electrónica de barrido. Cotiledón de semilla de aguacate cv. Hass. Sin extraer. (a) Gránulos de almidón**



Fuente: GARCIA, José A. *Estructura de la semilla de aguacate y cuantificación de la grasa extraída por diferentes técnicas*. p. 35.

2.1.4. Análisis proximal y fitoquímico

Análisis proximal: el análisis proximal de la semilla de aguacate se realizó por los métodos descritos en el AOAC # 935,39, cuantificando humedad 925,04, cenizas 900,02, fibra cruda 962,09, proteína 920,152 y extracto etéreo 920,39. Los resultados del análisis proximal realizado a la semilla de aguacate comparados con los obtenidos por carriles (1977) se muestran en la tabla I.

Tabla I. **Análisis proximal de la semilla de aguacate variedad Hass**

Determinación	Resultados experimentales (g/100g)	Resultados bibliográficos (g/100g)
Humedad	47,5	47,8
Cenizas	1,2	0,9
Proteína	2,6	1,7
Fibra cruda	3,5	3,5
Extracto etéreo	2,4	2,8

Fuente: <http://respyn.vanl.mx/especiales/2007/22-12-2007/documentosCNCA.2007.33.pdf>.
Consulta: junio de 2008.

Análisis fitoquímico: del polvo fino de la semilla de aguacate se obtuvieron tres extractos: acuoso, etanólico y etéreo. Con los tres extractos se realizó un análisis fitoquímico preliminar por el procedimiento de *Asongalem et al.*, 2004.

En la tabla II se muestra el análisis fitoquímico realizado a la semilla de aguacate. De estos resultados se destacó el contenido de taninos y azúcares reductores. Castro en 1999, atribuyó a los taninos un efecto desinflamatorio y antihemorrágico.

Tabla II. **Análisis fitoquímico de la semilla de aguacate variedad Hass**

Muestra		Extracto etéreo de semilla de aguacate	Extracto etanólico de semilla de aguacate	Extracto acuoso tradicional de semilla de aguacate
Alcaloides		Negativo	Negativo	Negativo
Taninos		Positivo azul	Positivo azul	Negativo
Azúcares reductores	Fehling	Positivo naranja	Positivo naranja	Positivo naranja

Continuación de la tabla II.

	Benedict	Positiv o naranja	Positiv o naranja	Positiv o naranja
Flav onoides	NaOH	Negativo	Positiv o	Positiv o
	HCl	Negativo	Negativo	Negativo
Quinonas	NaOH	Negativo	Negativo	Negativo
	H2SO4	Negativo	Negativo	Negativo
Saponinas		Negativo	Negativo	Negativo
Serquiterpenlactonas		Negativo	Negativo	Negativo

Fuente: <http://respyn.vanl.mx/especiales/2007/22-12-2007/documentosCNCA.2007.33.pdf>.

Consulta: junio de 2008.

2.1.5. Comercio del aguacate

Para Guatemala el aguacate significa un rubro importante, ya que para 2006, se estimaba un área de 7,268 hectáreas con una producción anual de 61 235 Toneladas y una tasa media anual de crecimiento del 10% para el período de 1996 – 2006. Durante este período se importó un promedio anual de 2.085 TM de aguacate de México para cubrir la demanda nacional. Actualmente se exporta a Honduras (66%) y a El Salvador (31%) y el resto de Centro América un promedio anual de 4,324 TM durante el período de 1996 – 2006.

El 70% de la producción de aguacate se encuentra concentrado en los departamentos de San Marcos, Chimaltenango, Quiché, Huehuetenango, Sololá, Sacatepéquez, Alta Verapaz y Petén.

No obstante en todo el territorio nacional crece en forma natural y espontánea y cuya producción también se destina para el comercio interno y externo.

2.2. Lixiviación y operaciones unitarias

Para poder retirar una fracción soluble (colorante) en forma de solución a partir de una fase sólida (semilla de aguacate), permeable e insoluble se utiliza la lixiviación, operación unitaria de transferencia de masa.

El mecanismo de la lixiviación puede incluir una disolución física simple o la disolución facilitada por una reacción química. Deberán considerarse los siguientes factores: velocidad de transporte de disolvente en la masa que se va a lixiviar, la posibilidad que haya una resistencia membranosas y el efecto que pueda tener la reacción química en la rapidez de la lixiviación. Es posible distinguir los sistemas de lixiviación según el ciclo de operación, la dirección de las corrientes, el número de etapas y por el método de contacto.

Las variables que intervienen en el proceso de lixiviación independiente de la escala de producción son:

- Preparación de la materia prima: el proceso de lixiviación se ve favorecido por el aumento de la superficie por unidad de volumen de sólidos que se deban lixiviar y por la disminución de las distancias radiales que se deben atravesar al interior de los sólidos. La disminución del tamaño de partículas contribuye a ambas cosas. Por otra parte, los sólidos finos provocan una velocidad lenta de percolación, dificultan la separación de sólidos y producen quizá un sólido de mala calidad. Estas características establecen las bases para un tamaño óptimo de partículas.
- Agitación: la eficiencia del proceso extractivo es función del equilibrio de saturación del solvente. La agitación hace que nuevas cantidades de

solvente, pobre en sustancias extraíbles, entren en contacto con el sólido y un nuevo punto de equilibrio de saturación sea alcanzado. El movimiento del líquido, con ayuda de bombas para recirculación del solvente o agitadores mecánicos, desplaza el equilibrio en el sentido de la saturación del solvente, aumentando la eficiencia del proceso.

- Temperatura: la disolución de las sustancias extraíbles es facilitada por el aumento de la temperatura, por contribuir al desplazamiento de la constante de equilibrio de saturación y aumenta la eficiencia del proceso. Este aumento también puede causar la pérdida de sustancias volátiles. La temperatura de la extracción debe seleccionarse de tal manera que se obtenga el mejor balance de solubilidad, presión de vapor del disolvente, difusividad del soluto, selectividad del disolvente y sensibilidad del producto.
- pH: el pH influye en la solubilidad de diversos compuestos, ya que permite la posibilidad de formación de sales. Durante la lixiviación de extractos naturales el pH puede influir en la disolución de la celulosa de la materia prima. Además, es indicativo del grado de avance de la reacción, equilibrio y finalización.
- Naturaleza del disolvente: el disolvente seleccionado ofrecerá el mejor balance de varias características deseables: alto límite de saturación y selectividad respecto al soluto por extraer, capacidad para producir el material extraído con una calidad no alterada por el disolvente, estabilidad química en las condiciones del proceso, baja viscosidad, baja presión de vapor, baja toxicidad e inflamabilidad, baja densidad, baja tensión superficial facilidad y economía de recuperación de la corriente de

extracto y costo. Sin embargo, son los aspectos específicos de cada aplicación los que determinan su interacción y significancia relativa.

- Tiempo de extracción: el tiempo de extracción se determina experimentalmente en función del solvente y del equipo seleccionado. Esta variable es resultante de todos los factores mencionados previamente. El tiempo de extracción debe ser suficiente para permitir la separación de los compuestos de interés, aunque debe prestarse cuidado para que no sea excesivo. Prolongar el tiempo de extracción más allá del estrictamente necesario, no influye en el proceso negativamente, pero sí influye en los costos del consumo de energía y de mano de obra no necesario, lo que acarrea un encarecimiento del proceso.
- Composiciones y cantidades de las corrientes finales: éstas están ligadas básicamente con una cantidad dada en forma arbitraria: la capacidad de producción de la planta de lixiviación es decir la velocidad de producción del extracto o la velocidad de purificación de la materia prima que se debe extraer. Cuando existen opciones, el grado de eliminación del soluto y la concentración de la corriente de extracto seleccionada son los parámetros que maximizan la economía del proceso.
- Ciclo de lixiviación y método de contacto: por lo general, la selección entre una operación intermitente y continua depende básicamente del tamaño y naturaleza del proceso del cual forma parte la extracción. La elección de un percolador o una técnica de dispersión de sólidos dependen principalmente de la docilidad de la extracción para realizar una percolación eficaz y suficientemente rápida.

- Tipo de reactor: el tipo específico de reactor que es más compatible con la combinación seleccionada de los parámetros precedentes rara vez se percibe en forma clara e inequívoca sin dificultad. Sin embargo, al final, éste es el objetivo. La verdad es que siempre los últimos criterios son la confiabilidad y la utilidad.

La salida del complejo soluto-solvente, en el caso de células enteras, depende del equilibrio entre la concentración de este complejo en el interior y en el exterior de la célula. Los procesos extractivos interfieren en la constante de equilibrio desplazándolo hacia el exterior de la célula. La capacidad de una mezcla de solventes de inducir un momento dipolar puede ser calculada. La constante dieléctrica del sistema depende de la constante de cada uno de ellos y de su respectivo porcentaje en la mezcla. Siendo así se puede calcular la constante dieléctrica (c) del sistema a través de la fórmula:

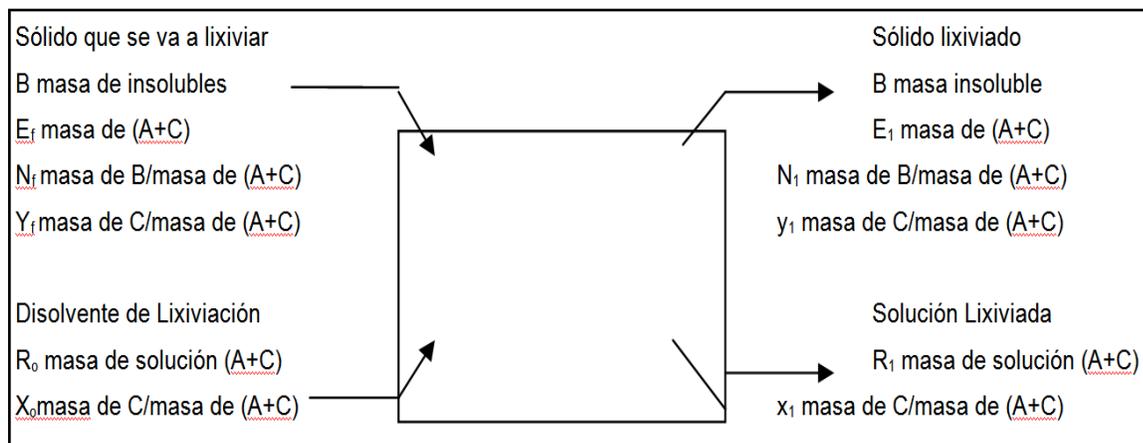
Fórmula No. 1 constante dieléctrica

$$C \text{ del sistema} = \frac{cAx\% + cBx\% + \dots cnx\%}{100}$$

Es importante que se haga un cálculo aproximado del grado de lixiviación obtenible mediante cierto procedimiento, es decir, de la cantidad de sustancia soluble lixiviada de un sólido; con este propósito ha de conocerse el contenido inicial de soluto del sólido, el número y cantidad de los lavados con el disolvente de lixiviación, la concentración de soluto en el disolvente de lixiviación, si hubo lixiviación y el método que se empleó para efectuarla. Por lo general, será más sencillo realizar los cálculos gráficamente, como en otras operaciones de transferencia de masa; para esto se requiere representación gráfica de las condiciones en el equilibrio. En los casos más sencillos se debe trabajar con sistemas de tres componentes, que contienen el disolvente puro (A), el sólido

acarreador insoluble (B) y el soluto soluble (C). Los cálculos y las representaciones gráficas pueden hacerse sobre coordenada triangulares para cualquier sistema ternario de este tipo. Considérese la lixiviación real o etapa de lavado simple:

Figura 6. **Diagrama de lixiviación en una sola etapa**



Fuente: TREYBAL, Robert. *Operaciones de transferencia de masa*. p. 68.

Como para la mayoría de los fines el sólido B es insoluble en el disolvente y dado que se obtiene una solución de lixiviación líquida clara, el sólido B descargado en los sólidos lixiviados se tomará como el mismo que en los sólidos por lixiviar:

$$B = N_f F = E_1 N_1 \quad (\text{Ecuación No. 1})$$

Un balance de soluto (C),

$$F y_f + R_0 x_0 = E_1 y_1 + R_1 x_1 \quad (\text{Ecuación No. 2})$$

Un balance de disolvente (A),

$$F(1 - y_F) + R_o(1 - x_o) = E_1(1 - y_1) + R_1(1 - x_1) \quad (\text{Ecuación No. 3})$$

Y un balance de la solución (soluto + solvente),

$$F + R_o = E_1 + R_1 = M_1 \quad (\text{Ecuación No. 4})$$

Un mezclado de los sólidos que se van a lixiviar y el disolvente de lixiviación produce una mezcla de masa M_1 libre de B tal que:

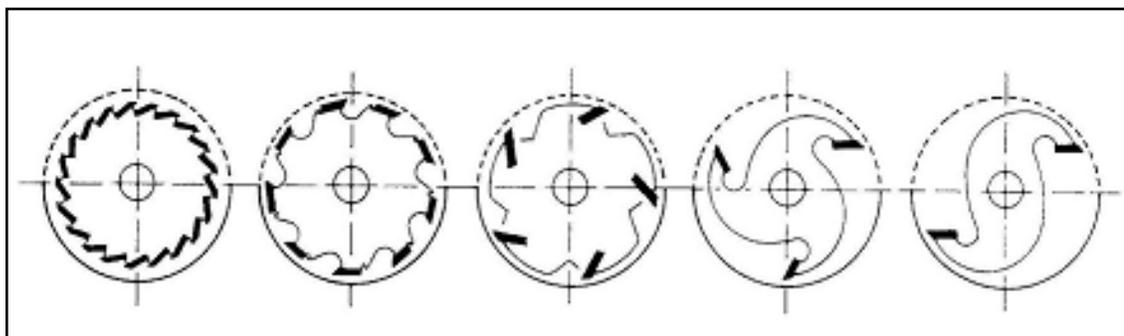
$$N_{M_1} = \frac{B}{F + R_o} = \frac{B}{M} \quad (\text{Ecuación No. 5})$$

$$Y_{M_1} = \frac{y_F F + R_o x_o}{F + R_o} \quad (\text{Ecuación No. 6})$$

Estas relaciones pueden mostrarse en el sistema de coordenadas de la figura 7. El punto F representa el sólido por lixiviar y R_o el disolvente de lixiviación. El punto M_1 , que representa la mezcla global, debe caer sobre la línea recta que une R_o y F. Los puntos E_1 y R_1 que representan las corrientes efluentes, están ubicados en extremos opuestos de la línea de unión a través de M_1 ; sus composiciones se pueden leer en el diagrama. La ecuación 1 permite el cálculo del peso de E_1 y la ecuación 4 el de R_1 .

tamaño: compresión, impacto, frotación o rozamiento y corte. Para reducir el tamaño de la semilla de aguacate se utilizará el corte, dado que produce un tamaño definido de partícula y forma, con muy pocos finos. Las máquinas cortadoras comprenden las cortadoras de cuchillas rotatorias y los granuladores. Una cortadora de cuchillas rotatorias consta de un rotor horizontal que gira de 200 a 900 rpm en el interior de una cámara cilíndrica. Sobre el rotor van acopladas de 2 a 12 cuchillas con extremos de acero que pasan muy próximas sobre 1 a 7 cuchillas estacionarias. Las partículas de alimentación entran en la cámara por la parte superior, son cortadas varios centenares de veces por minuto y salen a través de un tamiz situado en el fondo con aberturas de 5 a 8 mm. Las cortadoras rotatorias y los granuladores tienen un diseño similar. Un granulador produce partículas más o menos irregulares; una cortadora puede dar cubos, cuadrados delgados o gránulos.

Figura 8. Tipos de cuchillas



Fuente: SHARAPPIN, Nikolao. *Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos*. p. 152.

- Cribado: la clasificación de sólidos por diámetros se realiza para facilitar las etapas subsecuentes del proceso. De esta forma se logra una eficiencia mejor mediante la eliminación de finos. Los procedimientos

para separar los componentes de una mezcla se clasifican en dos grupos: las operaciones disfuncionales, que implican cambios de fases o transporte de materia de una fase a otra, y las separaciones mecánicas útiles para separar gotas líquidas o partículas sólidas como es el caso de la semilla de aguacate. Las técnicas están basadas en las diferencias físicas entre partículas, tales como tamaño, forma o densidad.

Los métodos generales son:

- el cribado: es la separación de una mezcla de diversos tamaños de partícula por medio de la utilización de una superficie de tamiz que actúa como medidor múltiple de aceptación y rechazo, y las proporciones finales consisten en granos de tamaños más uniformes que la mezcla original
- la utilización de la diferencia de velocidades de sedimentación de partículas cuando se desplazan en el seno de un líquido o un gas: el cribado es un método de separación de partículas basado exclusivamente en el tamaño de las mismas, así se separan después del corte las partículas de semilla de aguacate, colocándolas sobre la superficie del tamiz, las de menor tamaño o finas pasan a través del tamiz, mientras que las de mayor tamaño colan.

Un sólo tamiz puede realizar una separación en dos fracciones. Dichas fracciones se dice que no están dimensionadas, ya que si bien se conocen los límites superior o inferior de los tamaños de partícula de cada una de las fracciones, no se conocen los límites de tamaño. Los tamices industriales se construyen con tela metálica, telas de seda o

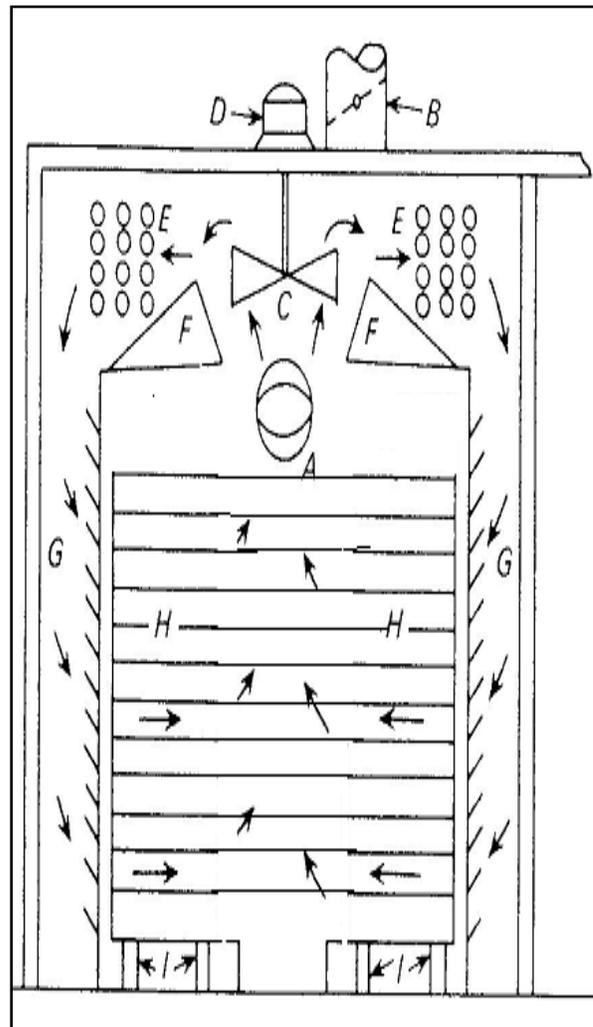
plástico, barras metálicas, placas metálicas perforadas, o alambres de sección transversal triangular. Se utilizan diferentes metales, siendo el acero al carbono y el acero inoxidable los más frecuentes. Los tamaños de tamices normalizados está comprendido entre 4 pulgadas y 400 mallas y pueden escalarse en una serie de tamices de aberturas de sucesión fija por ejemplo la escala básica estándar original de la criba de Tyler. En el apéndice se puede observar una tabla de la serie de tamices de Estados Unidos y equivalentes de Tyler.

- Secado: en general el secado de sólidos consiste en separar pequeñas cantidades de agua u otro líquido de un material sólido con el fin de reducir el contenido de líquido residual hasta un valor aceptablemente bajo. El secado de sólidos húmedos es por definición un proceso térmico. Aunque con frecuencia se complica por la difusión en el sólido. Cuando intervienen transmisiones de calor y transferencia de materia, el mecanismo del secado depende de la naturaleza de los sólidos y del método de contacto entre los sólidos y el gas. El secadero a utilizar en el secado de las semillas se aguacate es un secadero de bandejas de flujo transversal. Consiste en una cámara rectangular de chapa metálica que contiene 15 bastidores H cada bastidor lleva una bandeja poco profunda, en forma cuadrada que se cargan con el material a secar. Un ventilador C y el motor D, pasando sobre los calentadores E. Las placas deflectoras G distribuyen el aire uniformemente sobre el conjunto de bandejas.

Parte de aire húmedo se expulsa de forma continua a través del conducto de descarga B, mientras que por A entra la reposición de aire fresco. Los secaderos de bandejas resultan convenientes cuando la capacidad de producción es pequeña. El secado por circulación de aire sobre capas estacionarias de sólidos es lento y, por consiguiente, los ciclos de

secado son largos, de 4 a 48 horas por ciclo. Ocasionalmente se utiliza el secado con circulación transversal, pero esto es poco frecuente, ya que no es necesario ni económico. Prácticamente pueden secar cualquier producto, pero frecuentemente se utilizan en el secado de materiales valiosos tales como colorantes y productos farmacéuticos.

Figura 9. **Secador de bandejas**



Fuente: TREYBAL, Robert. *Operaciones de transferencia de masa*. p. 68.

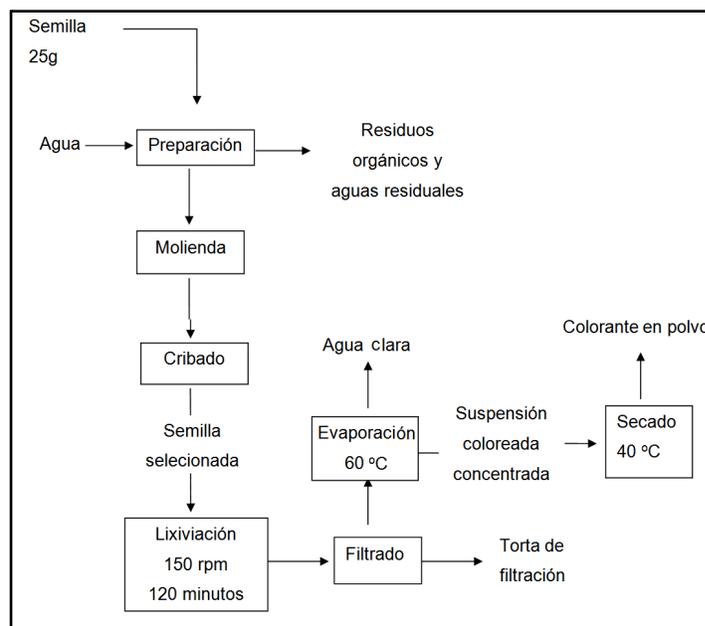
- **Filtración:** es la separación de partículas sólidas a partir de un fluido haciendo pasar el fluido a través de un medio filtrante sobre el que se depositan los sólidos. Las filtraciones industriales van desde un sencillo colado hasta separaciones altamente complejas. El fluido circula a través del medio filtrante en virtud de una diferencia de presión a través del medio. Por esta razón los filtros se clasifican atendiendo si operan con una sobre presión arriba del medio filtrante, los que lo hacen con presión atmosférica aguas arriba del medio filtrante y aquéllos que presentan vacío aguas abajo. Se dividen en dos grandes grupos: filtros clarificadores, ya que las partículas del sólido son atrapadas en el interior del medio filtrante, y filtros de torta donde las partículas sólidas entran en los poros del medio filtrante y rápidamente comienzan a ser recogidas sobre la superficie del medio filtrante formándose una torta.
- **Evaporación:** el objetivo de la evaporación es concentrar una disolución consistente en un soluto no volátil y un disolvente volátil. En la mayor parte de las evaporaciones el disolvente es agua. La evaporación se realiza vaporizando una parte del disolvente para producir una disolución concentrada. Normalmente en evaporación el producto valioso es el líquido concentrado mientras que el vapor se condensa y se desecha, recibiendo el nombre de evaporación de simple efecto. El método general para aumentar la evaporación por kilogramo de vapor de agua utilizando una serie de evaporadores entre el suministro de vapor vivo y el condensador recibe el nombre de evaporación en múltiple efecto.

En los productos fitoquímicos la concentración por medio de evaporación busca aumentar el contenido de sólidos en el extracto con la finalidad de:

- alcanzar un determinado contenido del residuo seco
- fabricar extractos blandos
- como etapa preliminar en la producción de extractos secos

La concentración es una etapa problemática debido a la posibilidad de degradación de sustancias termolábiles (en nuestro caso el colorante). El clásico concentrador de Roberts es el equipo más utilizado industrialmente para la concentración de los extractos. Consiste en una batería de tubos delgados dispuestos concéntricamente dentro de un tubo central, más largo. Los tubos son calentados con vapor y la solución a ser concentrada pasa por el interior de los mismos, donde es evaporada.

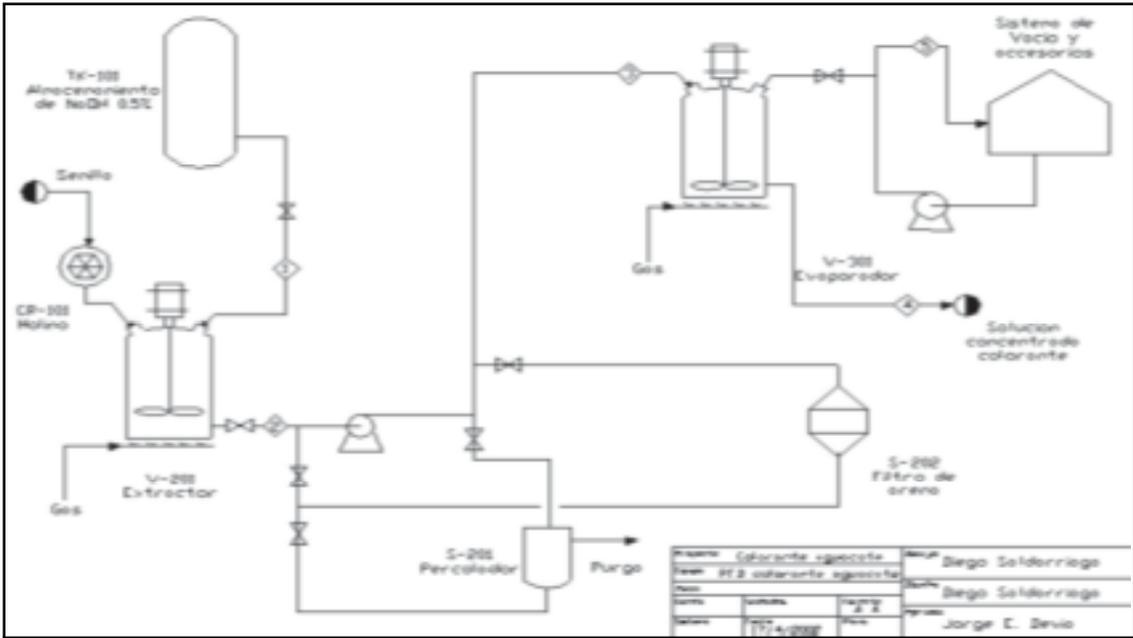
Figura 10. **Diagrama de bloques del proceso de extracción del colorante de la semilla del aguacate**



Fuente: <http://respyn.vanl.mx/especiales/2007/22-12-2007/documentosCNCA.2007.33.pdf>.

Consulta: agosto de 2009.

Figura 11. Diagrama de flujo para el proceso de extracción del colorante de la semilla del aguacate



Fuente: PINEDA, David; SALDARIAGA, Jorge; SALDARIAGA, Diego. *Proceso para obtener colorante a partir de la semilla de aguacate*. p.36.

Figura 12. Nomenclatura de equipos y corrientes del proceso

NOMENCLATURA DE EQUIPOS		
TK- 101 Tanque de almacenamiento de NaOH al 0.5% P/V.	V-201 Tanque extractor de la solución coloreada	S-201 Percolador
S-202 Filtro de arena	V-301 Tanque evaporador	

NOMENCLATURA DE CORRIENTES	
1 Solución de NaOH al 2% P/V	5 Suspensión libre de sólidos
2 Semillas de aguacate	6 Solución concentrada colorante
3 Suspensión coloreada	7 Agua de circulación para vacío
4 Semilla despojada de colorante	

Fuente: PINEDA, David; SALDARIAGA, Jorge; SALDARIAGA, Diego. *Proceso para obtener colorante a partir de la semilla de aguacate*. p.36.

2.4. Colorantes

El color observado en los cuerpos depende del tipo de radiaciones absorbidas o reflejadas al recibir un haz de rayos de luz blanca. Por eso el color se puede definir como la impresión que produce en la vista la luz reflejada por un cuerpo. Si un cuerpo absorbe todos los colores, sin reflejar ninguno, a nuestra vista parece negro. Si por el contrario los refleja todos, aparecerá blanco. Si sólo refleja un color y absorbe los demás, toma el color reflejado.

Los colores se clasifican en:

- Cromáticos: rojo, anaranjado, amarillo, verde, azul, añil y violeta que son los colores del arco iris.

- No cromáticos: son blanco, negro y gris.

Dentro de un color se distinguen sus tonos (intensidad de color) y su gama (mezcla de un color con cantidades variables de blanco o negro)

Los colorantes son sustancias que añadidas a otras les proporcionan, refuerzan o varían el color. Los colorantes han sido usados por el hombre desde los tiempos más remotos como aditivos de sus alimentos. En un principio se usaron colorantes extraídos de plantas e incluso minerales. Actualmente se utilizan mucho los colorantes artificiales o sintéticos llamados así por ser obtenidos por procedimientos químicos de síntesis.

2.4.1. Clasificación de los colorantes

Los colorantes pueden ser clasificados de la siguiente forma, según su origen:

- Colorantes orgánicos o naturales: son los procedentes de plantas y animales tales como la clorofila, carotenos, riboflavina, entre otros. Estos colorantes son extraídos por diversos métodos como la maceración y fermentación.
- Colorantes minerales: lacas, sulfato de cobre, cromato de plomo, etc., que actualmente no son utilizados en alimentación por llevar iones metálicos.
- Colorantes artificiales: son los obtenidos por síntesis química, actualmente se conocen más de 3 000, aunque la lista de los utilizados

especialmente en la alimentación es aproximadamente menos del diez por ciento.

Los colorantes artificiales son muy utilizados por sus excelentes propiedades como proporcionar un color persistente, ofrecer colores variados, uniformes y de la intensidad que se desee, alta pureza y bajo costo, además de poderse obtener en grandes cantidades.

Los colorantes también se pueden dividir en: hidrosolubles, liposolubles e insolubles. Normalmente los colorantes se comercializan en polvo, siendo necesaria su posterior disolución y mezcla.

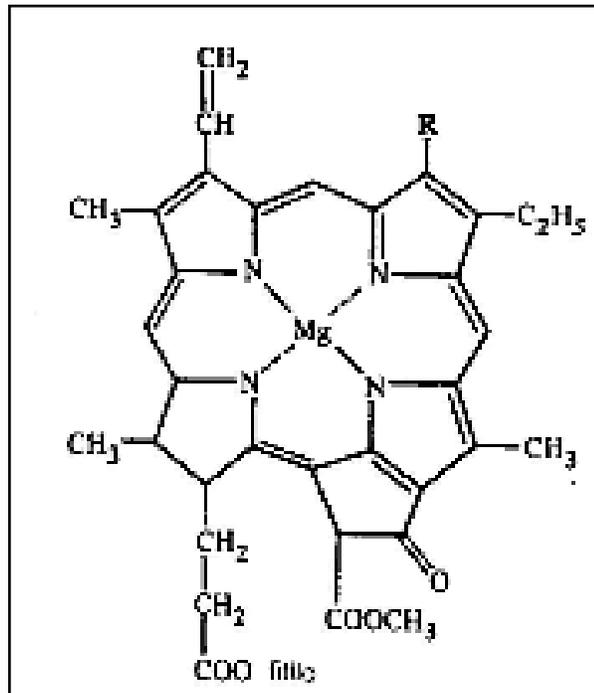
2.4.2. Colorantes naturales

Los pigmentos vegetales potencian el valor estético de frutas y hortalizas para los humanos, así como la atracción de insectos y aves, lo que favorece la polinización. Los pigmentos cambian con la maduración y el procesado de las hortalizas o frutas crudas.

Los pigmentos predominantes se describen a continuación:

- **Clorofila:** es el pigmento verde que se encuentra en los cloroplastos celulares que es responsable de la fotosíntesis. Es liposoluble y puede aparecer en el agua de cocción de hortalizas que contiene grasa. La clorofila es estructuralmente un anillo porfirina que contiene magnesio en el centro de un anillo de cuatro grupos pirrol.

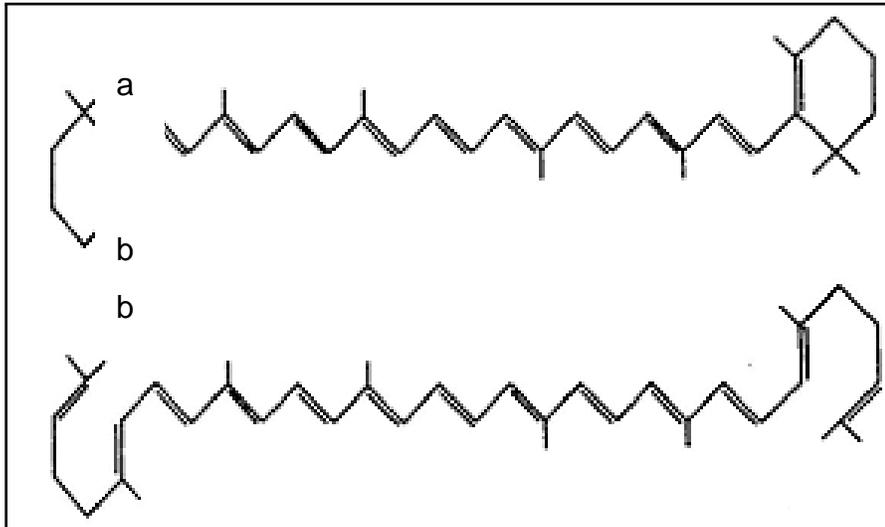
Figura 13. **Clorofila**



Fuente: VALCKLAVICK, Vickie. *Fundamentos de ciencia de los alimentos*. p. 135.

- Carotenoides: son los pigmentos solubles rojos, naranjas y amarillos de frutas y hortalizas, incluyendo carotenos y xantofilas. Los carotenoides son solubles en acetona, alcohol y lípidos pero no en agua. Los carotenos son hidrocarburos insaturados que contienen muchos átomos de carbono. Contienen dobles enlaces conjugados y son responsables del color. Las xantofilas son los derivados oxidados de carotenos de color amarillo-anaranjado constituidos por carbono, hidrógeno y oxígeno.

Figura 14. Carotenoides a) betacaroteno y b) licopeno



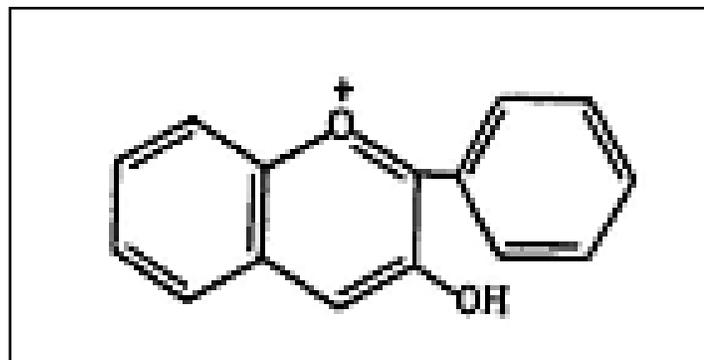
Fuente: VALCKLAVICK, Vickie. *Fundamentos de ciencia de los alimentos*. p. 107.

- Flavonoides: se encuentran en las frutas y verduras. Son solubles en agua y se encuentran en la savia celular. Estos pigmentos incluyen las antocianinas (literalmente flor azul), las antoxantinas (literalmente, flor amarilla), y un tercer grupo conteniendo una serie de compuestos fenólicos relacionados. Los flavonoides son un gran grupo de sustancias fenólicas que se caracterizan por tener un esqueleto carbonado del tipo $C_6-C_3-C_6$. La estructura básica de estos compuestos consiste en dos anillos aromáticos unidos por una cadena alifática de tres átomos de carbono que, habitualmente, ha sido condensada para formar un pirano. Estas sustancias incluyen las flavonas, las isoflavonas, las flavonas y las chalconas.
- Antocianinas: es el pigmento púrpura, azul, o azul rojizo en frutas y hortalizas. Pertenecen al grupo de los compuestos químicos de la

flavona, son hidrosolubles y se encuentran en la savia celular. El color depende de los grupos particulares unidos a la estructura básica y la posición del carbón al que se unen. Un medio de cocción alcalino puede producir un color azul-violeta y en un ambiente ácido el pigmento exhibe un color rojo.

Los metales, como el hierro de los utensilios de preparación que no son de acero inoxidable, cambien el pigmento natural púrpura a un color azul verdoso.

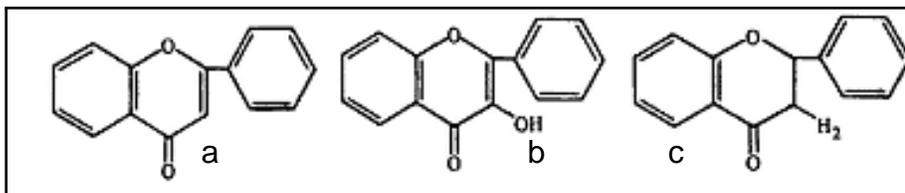
Figura 15. **Antocianina**



Fuente: VALCKLAVICK, Vickie. *Fundamentos de ciencia de los alimentos*. p. 140.

- Antoxantina: están más ampliamente distribuidas en las plantas que las antocianinas. Las encontradas en frutas y verduras incluyen las flavonas, flavonoles y flavanona. De este modo, la diferencia en el anillo central que contiene el fragmento de tres carbonos diferencian a los pigmentos de los tres subgrupos: flavona, flavonol y flavanona.

Figura 16. a) flavona, b) flavonol y c) flavonona



Fuente: VALCKLAVICK, Vickie. *Fundamentos de ciencia de los alimentos*. p. 169.

- Flavonoles: en las frutas y verduras existen una serie de compuestos fenólicos, además de las antocianinas y antoxantinas. El color café que adquieren las frutas, se atribuye a la presencia de uno o más de estos substratos fenólicos. La catequina es uno de tales y relacionado con la catequina se encuentra otro grupo de compuestos las proleucoantocianinas. Como lo indica el prefijo leuco los compuestos carecen de color, cuando se calienta una proantocianina sin color en presencia de ácido y de oxígeno se forma la antocianidina correspondiente. La astringencia en los alimentos se atribuye a compuestos de esta clase.
- Betalainas: las betalainas son un grupo menor de pigmentos. Similares tanto a las antocianinas como antoxantinas, pero tienen un grupo nitrógeno en la estructura molecular. Las betalainas que se encuentran en remolachas, llamadas betacianinas, son rojas, mientras otras son amarillas.
- Bija: la bija es el extracto coloreado obtenido del pericarpio del fruto de la *Bixa Orellana*, un arbusto grande, de 2 a 5 m de alto, nativo de América tropical. El pigmento naranja de la bija es fundamentalmente un

carotenoide. La bixa soluble en aceite se produce por raspado mecánico, del pericarpio sumergido en aceite vegetal caliente (70 °C). El colorante producido comercialmente contiene alrededor del 0,2 – 0,25% de bixina. De una forma alternativa el pigmento puede extraerse con un disolvente adecuado como la acetona. El disolvente se elimina a continuación para obtener un polvo de bixina de gran poder colorante, que se suspende en aceite a concentraciones del 3,5 – 5,2%. La bixa soluble en agua se prepara triturando el pericarpio del fruto en álcali acuoso a 70 °C. El producto es una sal de la norbixina, tanto cis como trans. La norbixina es de color naranja, y aunque es un ácido dicarboxílico no es soluble en agua. Sin embargo, la sal formada en medio alcalino es fácilmente soluble en agua.

- Caramelo: es el producto amorfo, de color marrón oscuro obtenido mediante tratamiento térmico controlado de un carbohidrato de calidad alimentaria, habitualmente jarabe de almidón de maíz hidrolizado con un contenido de glucosa del 75%. Se añaden ácidos, álcalis o sales en pequeñas cantidades para aumentar la velocidad de caramelización obtener las características deseables para los diferentes usos alimentarios. El caramelo consiste en una mezcla compleja de polímeros de composición no definida. La estructura química exacta es incierta, y el caramelo se clasifica generalmente en tres grupos: caramelano $C_{24}H_{36}O_{18}$, carameleno $C_{38}H_{50}O_{25}$ y caramelino $C_{12}H_{18}O_{8}$.
- Taninos: son sustancias de origen vegetal, presentes en ciertas semillas de cereales y leguminosas, así como en los forrajes.

Los taninos son compuestos fenólicos hidrosolubles y presentan junto a las reacciones clásicas de fenoles, la propiedad de precipitar a alcaloides,

gelatina y otras proteínas. Polímeros de naturaleza fenólica. Actualmente es posible tener una estructura química exacta de estos polifenoles que son los proantocianidoles y los poliésteres de los ácidos gálico y elágico, términos que tienden a sustituir la denominación imprecisa de taninos. Por lo tanto, se les da una nueva definición como: productos naturales fenólicos que pueden precipitar las proteínas a partir de sus disoluciones acuosas.

En los vegetales superiores se distinguen dos grupos diferentes de taninos tanto por su estructura como por su origen biogenético: taninos hidrolizables y taninos condensados.

Los taninos hidrolizables son oligo o poliésteres de un azúcar y de un número variable de moléculas de ácido fenol. El azúcar, generalmente, es la glucosa.

El ácido fenol es o bien el ácido gálico en el caso de los taninos gálicos, o el ácido hexahidroxifénico (HHDP) y sus derivados de oxidación es el caso de los taninos clásicamente denominados taninos eágicos. Desde 1985 se han aislado una nueva categoría de taninos: taninos complejos, son elagitaninos modificados que resultan de un derivado fenicromático sobre una molécula del éster HHDP de la glucosa: flavanol, procianidol y flavonol. Los taninos son característicos de angiospermas dicotiledóneas.

Los taninos condensados o proantocianidoles son polímeros flavánicos. Están constituidos por unidades de flavan 3-oles ligadas entre sí por enlaces carbono-carbono generalmente 4 – 8 o 4 - 6 resultante de un acoplamiento entre el C-4 electrolífico que proviene de un flavan - 4 – ol o de un flavan 3,4 – diol. Los proantocianidoles se han aislado e identificado en todos los grupos vegetales.

Los taninos se disuelven en agua formando disoluciones coloidales, pero su solubilidad varía según el grado de polimerización. Son solubles en alcohol y en c=acetona. Las disoluciones acuosas poseen una estabilidad variable según su estructura, generalmente moderada. Como todos los fenoles, los taninos reaccionan con cloruro férrico. Precipitan de sus disoluciones acuosas con sales de metales pesados y con gelatina. Los taninos hidrolizables y los condensados se pueden diferenciar con base en su comportamiento en medio ácido y en caliente.

2.4.3. Reacciones de los colorantes naturales ante diferentes factores

- Efectos de la acidez sobre el color de los flavonoides: tanto las antocianinas como las antoxantinas son compuestos anfóteros, con la capacidad de reaccionar tanto con ácidos como bases.

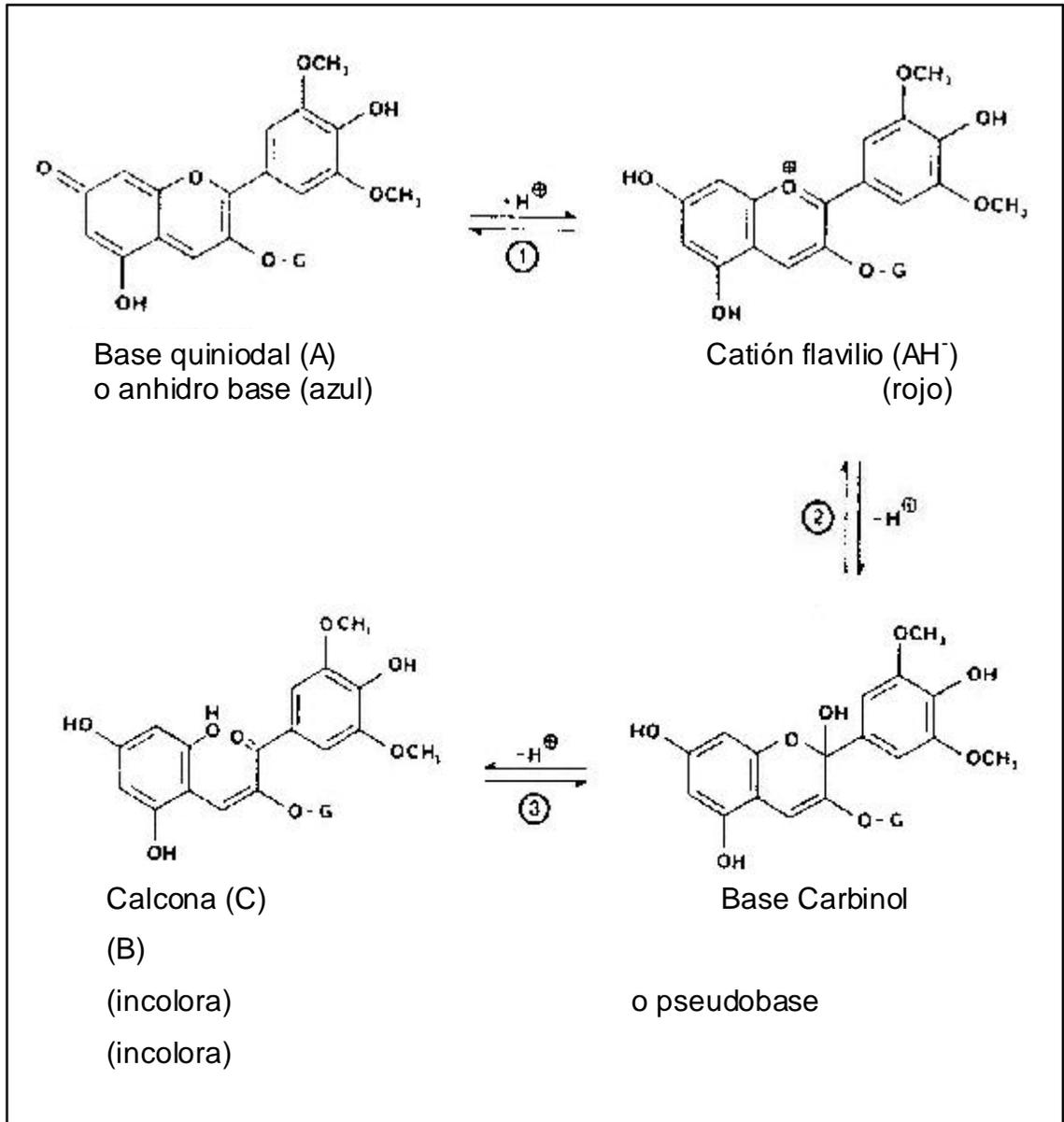
Las antoxantinas pueden cambiar de un color amarillo en un medio alcalino a un blanco cremoso en medio neutral y carecen de color en medios ácidos. Las antocianinas existen en una forma que es roja en medios ácidos. Muchos de estos pigmentos cambian a anhidro púrpura o a la base de color, a medida que la acidez en el medio disminuye y el pH se aproxima a 7. En el medio alcalino ocurre un cambio posterior al azul. Dichos cambios condujeron a un investigador a clasificar a estos pigmentos como camaleones vegetales.

Las antocianinas son muy sensibles a los cambios de pH. El color se pierde completamente cuando el pH de la solución alcanza valores muy elevados. La reacción de transferencia de protones para formar AH^+ a partir de A es muy rápida (ver figura 17), del orden de microsegundos, y

tiene un pK de 4,25. El porcentaje presente en forma de base quinoidal (A) es muy pequeño en la mezcla en equilibrio a cualquier pH (ver figura 18). En soluciones muy ácidas ($pH = 0,5$) la especie AH^+ , de color rojo, es la única que se encuentra en solución. Al aumentar el pH , la concentración y el color de la antocianina disminuye según la especie AH^+ pierde un protón para formar la forma quinoidal azul, o bien se hidrata para pasar a la base carbinol incolora que después se tautomeriza a calcona. Los valores de pK para B/AH^+ y A/AH^+ son 2,60 y 4,25 respectivamente.

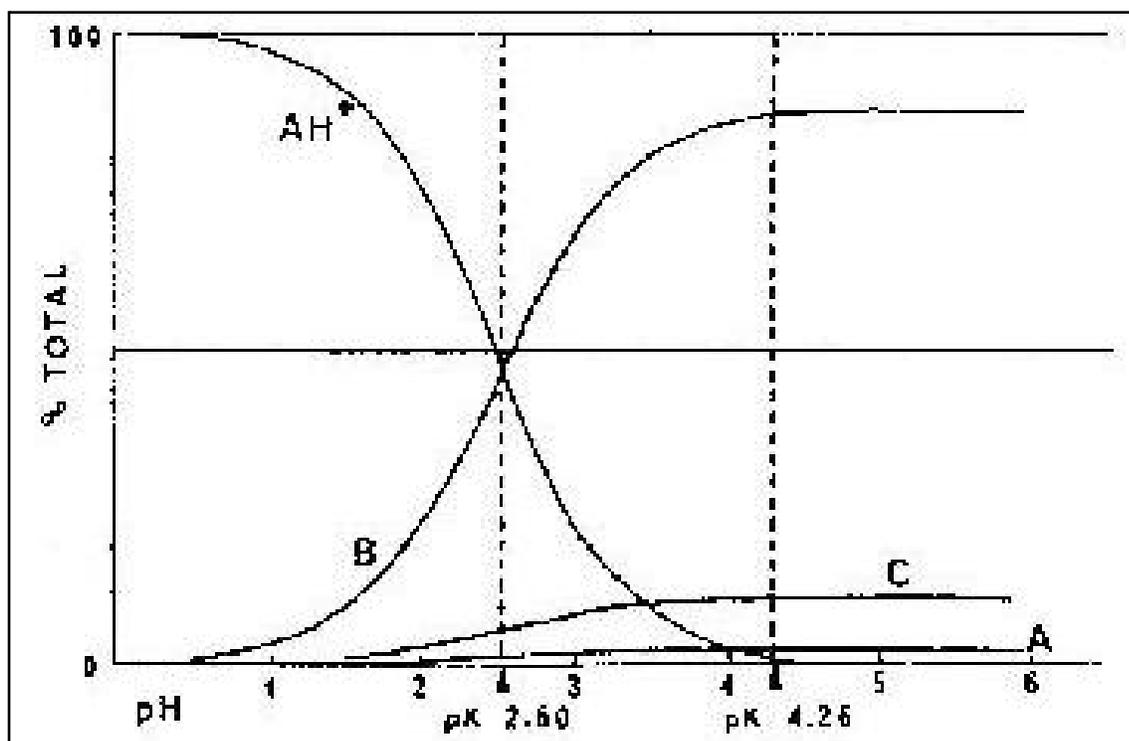
Como el porcentaje de base quinoidal es muy pequeño frente al total a cualquier pH , las antocianinas tienen poco color cuando el pH es superior a 4. Las antocianidinas son menos estables que las antocianinas, debido a la falta de sustituyentes en la posición 3, y la forma calcona es una α -dicetona inestable que se hidroliza fácil e irreversiblemente para dar ácido protocatecuico. (ver figura 19)

Figura 17. **Reacción 1. Reacción del malvidín-3 cuando el pH alcanza valores elevados**



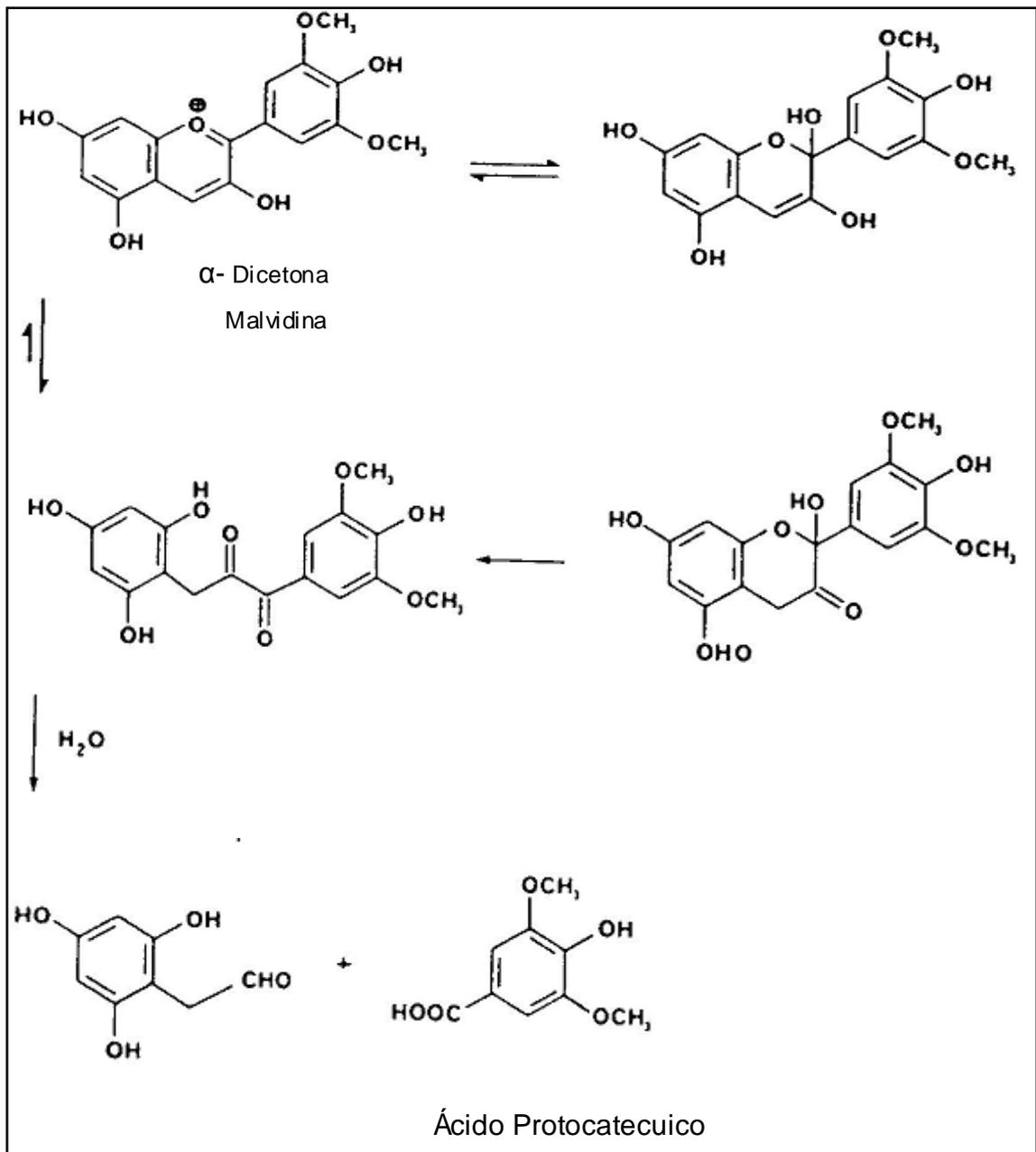
Fuente: WONG, Dominic. *Química de los alimentos mecanismos y teoría*. p. 268.

Figura 18. Distribución de las distintas estructuras en función del pH (malvidín glucósido: 25 °C). AH = catión rojo, B = base carbinol incolora, C = calcona incolora, A = base quinoidal azul



Fuente: WONG, Dominic. *Química de los alimentos mecanismos y teoría*. p. 270.

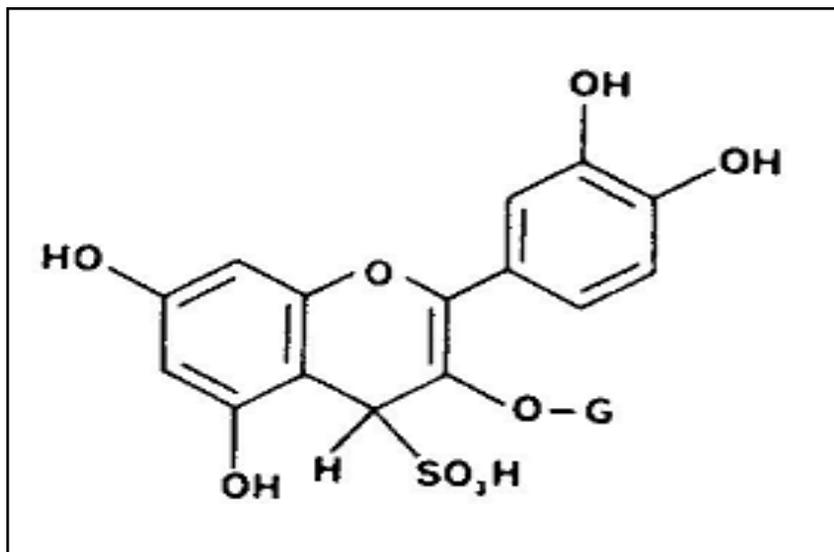
Figura 19. Reacción de malvidina a pH elevados, seguida de la reacción de hidrólisis de la α -dicetona a ácido protocatecuico



Fuente: WONG, Dominic. *Química de los alimentos mecanismos y teoría*. p. 273.

- Efectos de los iones metálicos sobre el color de los flavonoides: los pigmentos de antocianina y antoxantina reaccionan con los metales. Los productos formados pueden ocasionar cambios adversos en la apariencia de las frutas y verduras. Una antocianina con dos o tres grupos hidroxilos libres en los carbonos adyacentes pueden unirse con el aluminio, estaño o el hierro para formar un complejo azul, verde o pizarra.
- Decoloración por el anhídrido sulfuroso: el dióxido de azufre reacciona con la posición 4 de las antocianinas para formar un compuesto de adición. La adición no se produce en la posición 2 y la reacción es irreversible. Las antocianinas con la posición 4 bloqueada por grupos metilo o fenilo no se ven afectadas por el SO_2 , y también son más estables a la luz en presencia de ácido ascórbico o de trazas de hierro.

Figura 20. **Producto de la adición del bisulfito a la antocianina**



Fuente: WONG, Dominic. *Química de los alimentos mecanismos y teoría*. p. 273.

- Autoasociación y copigmentación: los tejidos vegetales tienen un pH típico entre 3,5 y 5,5. Por lo tanto para mantener su vivo color las antocianinas se asocian para formar pilas helicoidales mediante atracciones hidrofóbicas y por puentes de hidrógeno entre los núcleos de flavilio.

El aplazamiento tiende a proteger los grupos cromóforos asociados al azúcar frente a la reacción de hidratación. Otro mecanismo protector es la copigmentación, probablemente a través de enlaces de hidrógeno entre los grupos fenólicos de las moléculas de antocianinas y flavonas. Las moléculas de flavona se intercalan entre las de antocianina para formar apilamientos alternados. La presencia de flavonoles, aurona, taninos y polipéptidos también estabiliza a las antocianinas. En algunas antocianinas, los grupos acilantes, como el ácido cafeico, se pliegan entre y bajo los núcleos de flavilio apilados. La copigmentación causa habitualmente un desplazamiento batocrómico en λ_{max} en el visible, y un gran incremento de la intensidad.

- Condensación: las antocianinas se condensan en la posición 4 con otros flavonoides como los flavonoles como las catequinas, mediante una sustitución electrofílica para dar dímeros y polímeros. El producto, un flaveno, puede oxidarse a la 4-fenil antocianina. La oxidación del flaveno puede llevarse a cabo mediante la reacción de oxidación-reducción que implica la transferencia de un híbrido intermolecular desde flaveno al ion flavilio. La pérdida progresiva de las antocianinas durante el envejecimiento del vino se ha atribuido a esos tipos de reacciones de condensación.

En general, alrededor de la mitad de las antocianinas se pierden formando flavenos. Los pigmentos condensados son menos sensibles a los cambios de pH que las antocianinas precursoras, y son estables ante el dióxido de azufre, no decolorándose. Se ha observado otro mecanismo de condensación en el que las antocianinas y otros compuestos fenólicos como las catequinas se unen mediante puentes $-CH(CH_3)$ de acetaldehído. El acetaldehído reacciona como un electrófilo sobre la posición 8 de la catequina y una sustitución electrófila posterior del producto sobre la antocianina produce un dímero condensado. El producto condensado muestra un desplazamiento batocrómico y un efecto hipercrómico aumentado.

- Oxidación: el peróxido de hidrógeno oxida las antocianinas sustituidas en 3, a ésteres del ácido benzoil-oxifenilacético. La reacción es una oxidación del tipo Bayer-Villiger. Después del ataque nucleofílico del H_2O en el C_2 , el átomo de hidrógeno migra al oxígeno adyacente y causa ruptura entre el C_2 y el C_3 . Los ésteres formados se hidrolizan fácilmente formando varios productos de degradación.

2.4.4. Los colorantes internacionalmente

Un colorante es cualquier tinte, pigmento o sustancia que imparte color cuando se añade o se aplica a un alimento, medicamento, cosmético o al cuerpo humano. El término FD&C se aplica a los colorantes alimentarios autorizados por la FDA para uso en alimentos, medicamentos y cosméticos, D&C se usa para agentes colorantes de cosméticos y medicamentos y D&C externo se aplica a los colorantes para aplicación externa.

Los pigmentos derivados de fuentes naturales como los de origen vegetal, mineral o animal, y los equivalentes a los derivados naturales hechos por el hombre están exentos de la certificación FDA, aunque están obligados a evaluación de su seguridad antes de que se autorice su uso de alimentos.

2.5. Métodos de análisis de los colorantes

Cuando se llevan a cabo investigaciones para buscar o confirmar una actividad farmacológica, es muy importante la determinación de los constituyentes químicos de la planta y de sus partes. Las sustancias presentes en el extracto deben ser evaluadas químicamente, pues de lo contrario el experimento puede ser invalidado por no utilizar un extracto estandarizado.

2.5.1. Cromatografía

Es un método físico que permite la separación de mezclas de sustancias en sus componentes individuales. Esta técnica permite igualmente obtener informaciones cualitativas y cuantitativas sobre las sustancias presentes en la mezcla.

Existen varias clases de cromatografía entre las cuales, la más importantes son:

- De adsorción
- De reparto
- Intercambio iónico
- Filtración molecular

Los diferentes tipos de cromatografía pueden ser utilizados a través de diversas técnicas, siendo las principales:

- En papel
- En capa fina
- De gases
- En columna
- Líquida de alta eficiencia (CLAE o HPLC)

2.5.1.1. Cromatografía de capa fina

Para analizar el extracto colorante de la semilla de aguacate se utilizará la cromatografía en capa fina, la cual consiste en la separación de los componentes de una mezcla a través de la migración diferencial sobre una capa fina de adsorbente, retenida sobre una superficie plana.

En esta técnica, una solución de la muestra que va a ser analizada se aplica por medio de un tubo capilar sobre la superficie adsorbente inerte (sílica, alúmina, etc.) distribuida uniformemente sobre una placa de vidrio o de aluminio. La placa se coloca verticalmente dentro de una cámara previamente saturada con el vapor del eluyente adecuado, de tal forma que la parte inferior de la placa que contiene la muestra entre en contacto con la fase móvil. El eluyente va a migrar por capilaridad en la placa cromatográfica, separando por migración diferencial los diversos componentes de la mezcla a ser estudiada.

Después de que ha ocurrido, se evapora el eluyente y la placa se analiza. Utilizan luz UV o luz visible, o aplicando reactivos que dan como resultado reacciones de coloración con las sustancias contenidas en la mezcla analizada.

El gran desarrollo de esta técnica se debe a la múltiples ventajas que ofrece, entre las cuales se pueden citar: su fácil compresión y rápida ejecución, la versatilidad, su reproducibilidad y el bajo costo. El proceso de separación está fundamentado, principalmente en una serie de etapas o equilibrios de adsorción-desorción.

2.5.2. Espectrofotometría

Son métodos cuantitativos, de análisis químico que utilizan la luz para medir la concentración de las sustancias químicas. Se conocen como métodos espectrofotométricos y, según sea la radiación utilizada, como espectrofotometría de absorción visible (colorimetría), ultravioleta e infrarroja.

Asimismo, se refiere a la medida de cantidades relativas de luz absorbida por una muestra, en función de la longitud de onda.

Cada componente de la solución tiene su patrón de absorción de luz característico. Comparando la longitud de onda y la intensidad del máximo de absorción de luz de una muestra versus soluciones estándar, es posible determinar la identidad y la concentración de componentes disueltos en la muestra (solución incógnita).

Las ventajas de la espectrofotometría sobre otros métodos analíticos de laboratorio son varias: es rápida, precisa, versátil, fácil de usar y eficiente en costo. Los espectrofotómetros se han mejorado en precisión y versatilidad en los últimos años con los avances de tecnología, y actualmente se consideran indispensables en un laboratorio de química analítica.

La espectrofotometría se usa para diversas aplicaciones como: análisis cuantitativo y cualitativo de soluciones desconocidas en un laboratorio de investigación, estandarización de colores de diversos materiales, como plásticos y pinturas, detección de niveles de contaminación en aire y agua, y determinación de trazas de impurezas en alimentos y en reactivos.

Un espectrofotómetro típico posee cuatro componentes básicos:

- Una fuente de radiación que tiene intensidad constante en el rango de longitud de onda que cubre (usualmente es lámpara de tungsteno para luz visible y deuterio para ultravioleta).
- Un compartimiento para la muestra.
- Un monocromador que separa la banda de longitud de onda deseada del resto del espectro y la dispersa al compartimiento de la muestra.
- Un fotodetector, que mide cuantitativamente la radiación que pasa por la muestra.

En general, los espectrofotómetros miden el porcentaje de transmitancia (T) y absorbancia (A). El porcentaje de transmitancia se refiere a la cantidad de radiación que pasa a través de la muestra y alcanza el detector. Una solución límpida, no absorbente, mostrara una lectura de 100% de transmitancia en un espectrofotómetro calibrado. Las unidades de absorbancia van de 0 a 2. La absorbancia se relaciona con la transmitancia como:

Fórmula No. 2:

$$A = -\log 1/T, \text{ (logaritmo decimal).}$$

2.6. Cambio de color en los alimentos

En ciertas condiciones, una serie de frutas, incluyendo manzanas, aguacates, bananos, cerezas, duraznos y peras, cambian de color blanco cremoso a un desagradable color café o gris. Las contusiones y el daño al tejido alteran la disposición de los constituyentes dentro de las células y permiten que el contenido haga contacto. Esto puede ocasionar el cambio de color del tejido de una fruta cruda. Igual sucede con el corte de una fruta.

Para que la fruta adquiera color café, debe estar presente en el tejido crudo un compuesto fenólico conocido como sustrato. Existen una serie de compuestos fenólicos que pueden servir como sustratos para el oscurecimiento enzimático de las frutas. Además de la catequina y sus derivados, éstos incluyen la tirosina, ácido cafeico, ácido clorogénico, dopamina y los aglicones de ciertos flavonoides. Las sustancias fenólicas con grupos orto-dihidroxi, o trihidroxi vecinos, son susceptibles al cambio de color catalizados por las enzimas fenol oxidasas. El oxígeno, ya sea del aire en contacto con la superficie cortada o de los espacios intracelulares dentro del tejido debe tener contacto con el sustrato.

Para que el cambio de color ocurra rápidamente debe estar presente una enzima en el tejido de la fruta cruda para catalizar la reacción. Las enzimas que catalizan la oxidación (orto-difeno: oxígeno óxido-reductasa) se conocen por una serie de nombres comunes fenol-oxidasa, polifenol oxidasa, fenolasa o polifenolasa.

No es posible prevenir la coloración mediante eliminación de sustrato. Las frutas contienen todas una o más sustratos para las enzimas fenol oxidasas. El cambio de color se puede evitar suprimiendo el contacto del oxígeno con el sustrato.

Cubrir la fruta con azúcar mantiene al oxígeno atmosférico separado de la superficie; sin embargo, aún existe el problema del oxígeno intracelular. Están disponibles una serie de medios para limitar la actividad de las enzimas fenol oxidasas. La actividad de la enzima depende de la temperatura, con el óptimo cerca de los 43 °C. Si se mantiene la fruta fría, el cambio de color es más lento, pero aún con almacenamiento congelado, las frutas adquieren una coloración café, a menos que se les haya aplicado un tratamiento para evitarlo. La actividad de fenol oxidasa, al igual que la de todas las enzimas depende del pH. La alteración de los iones de hidrógeno en la fruta pudiera bloquear efectivamente su acción.

Una solución de ácido ascórbico es eficaz para evitar la coloración café. Es posible que ésta actúe como agente reductor para el intermediario oxidado de un compuesto fenólico, y así evita los cambios subsecuentes en el sustrato, que darían lugar a la formación de productos con color.

El tratamiento de las frutas con dióxido de azufre evita efectivamente la coloración café. El ácido sulfuroso formado ($\text{SO}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{H}_2\text{SO}_3$), es un fuerte agente reductor. Se combina con las quinonas formadas a partir de los compuestos fenólicos y así bloquea los cambios posteriores en la molécula. Además, el ácido sulfuroso gradualmente reduce la efectividad de la enzima.

En lugar de exponer la fruta a los gases del dióxido de azufre, puede sulfurarse sumergiéndola en una solución de bisulfito de sodio diluida. Si la fruta

rebanada se sumerge luego por un corto tiempo en una solución de fosfato dipotásico (K_2HPO_4), el olor del azufre es menos pronunciado y la fruta se conserva crujiente y no adquiere subsecuentemente color café. El calcio en la solución (0,1 por ciento de $CaCl_2$) actúa en forma sinergia con el SO_2 (0,3 por ciento) o con el ácido ascórbico (1,0 por ciento). Después de ser sumergidas por 3 minutos en la solución las manzanas no adquirieron el color café durante varias semanas cuando fueron almacenadas a 1 °C.

El cloruro de sodio puede inhibir la actividad de las enzimas fenol oxidasas, pero es necesaria una concentración bastante alta como para que sea tolerable al paladar. El ion cloruro si es efectivo. Una solución diluida de sal retardará el desarrollo del color café por tiempo limitado.

3. METODOLOGÍA

3.1. Variables

Con base en los ensayos preliminares y la revisión bibliográfica se definieron los parámetros que permitieron obtener un mayor rendimiento de la lixiviación. Definiéndose entonces las variables críticas y los parámetros constantes:

- Variables críticas
 - Concentración de solventes:
 - Soluciones de etanol: 35, 70, y 95% (v/v)
 - Soluciones de sulfito de sodio: 1 y 4% (w/v)

- Estado de la materia prima
 - Seca oxidada: menor al 10% humedad
 - Fresca oxidada: 45 – 55% humedad
 - Fresca sin oxidar: 50 – 60% humedad

- Parámetros constantes
 - Temperatura de secado: 35 °C
 - Relación sólido-solvente: 1:10 (w/v)
 - Tamaño promedio de partícula: 841 micrómetros

- Tiempo de extracción: 2 horas
- Velocidad de agitación: 800 rpm promedio

Tabla III. **Temperatura de extracción ebullición de los coadyuvantes**

Coadyuvante	Temperatura de ebullición (°C)
Agua	96
Solución de etanol al 35%	82
Solución de etanol al 70%	77
Solución de etanol al 95%	74
Solución de sulfito de sodio al 1%	94
Solución de sulfito de sodio al 2%	96

Fuente: elaboración propia.

3.2. Determinación del campo de estudio

El aguacate es una baya con mesocarpio y endocarpio carnosos que contiene una sola semilla; pertenece a la familia de las lauráceas. En el presente estudio se utilizaron las semillas del aguacate conocido botánicamente, como *Persea americana* Miller de la variedad *gratissima* que comprende a los aguacates de raza guatemalteca.

Las semillas en Guatemala son descartadas después de utilizado el fruto, sólo en algunas ocasiones, y a nivel industrial, son recolectadas y utilizadas para fines agrícolas. Para el presente estudio se utilizaron aguacates provenientes del occidente del país, obteniendo una gran diversidad de posibles semillas disponibles, de diferente tamaño, tiempo de maduración, color, variedad y otros.

3.3. Recursos humanos

- Investigador: Eva Isabel García Ramírez
- Asesora: Inga. Qca. Telma Maricela Cano Morales
- Revisor: Ing. César Alfonso García Guerra

3.4. Recursos físicos

Los recursos físicos que fueran utilizados para el proceso son descritos a continuación:

3.4.1. Localización

La investigación experimental, y el análisis de los extractos colorantes fueron realizadas en las siguientes instalaciones respectivamente:

- Laboratorio de la sección de Química Industrial del Centro de Investigaciones de la Facultad de Ingeniería de la Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Laboratorio de Química de la Escuela de Ingeniería Química de la Facultad de Ingeniería de la Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Laboratorio de Investigación de Productos Naturales, LIPRONAT, de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

3.4.2. Equipo

- Plancha de calentamiento
 - Marca: CORNING
 - Modelo: PC-620
 - Voltaje: 120 Voltios
 - Frecuencia: 60 Hz
 - Potencia: 1 113 Watts
 - Hecho en: Estados Unidos de Norte América

- Bomba de vacío
 - Marca: Gast
 - Modelo: O523-VAFG588DX
 - Voltaje: 100 -115 Voltios
 - Frecuencia: 50 Hz
 - Potencia: ¼ Hp
 - Revoluciones: 1 725/1 425 rpm
 - Hecho en: Estados Unidos de Norte América

- Balanza
 - Marca: Adventurer
 - Serie: G1231202040133
 - Voltaje: 8 -14.5 Voltios
 - Frecuencia: 50/60 Hz
 - Máxima capacidad: 150 g
 - Lectura mínima: 0,001 g

- Hecho en: Estados Unidos de Norte América

- Refrigeradora
 - Marca: Daewoo
 - Modelo: FR-147RV
 - Voltaje: 115 - 120 Voltios
 - Frecuencia: 60 Hz
 - Amperaje 1,1 Amperes
 - Refrigerante: R-134a
 - Hecha en: Korea

- Rotavapor
 - Marca: Büchi
 - Modelo: R-200
 - No. Fabricación: 414191030002
 - Voltaje: 120 Voltios
 - Frecuencia: 50/60 Hz
 - Potencia: 120 Watts
 - Hecho en: Flawil, Suiza

- Placas cromatográficas
 - Marca: Merck
 - Modelo: Kieselgel 60 F254
 - Dimensiones: 20 x 20 cm
 - Espesor: 0,2 mm

- Molino de cuchillas

Marca: Windmere

Modelo: MC50

Potencia: 120V

Hecho en: China

3.4.3. Cristalería

La cristalería utilizada en el proceso es la siguiente:

- Balones
- Varilla de agitación
- Probeta graduada
- Balón aforado
- Condensadores de reflujo

3.4.4. Materia prima

La materia prima utilizada fue la semilla de aguacate de origen guatemalteco, molida fresca y molida seca. Tamaño promedio de partícula de 840 micrómetros

3.4.5. Reactivos

- El etanol utilizado: lote 32S 542 Darsa con 96 gl
- El sulfito grado reactivo marca: Merck
- Agua desmineralizada marca: Salvavidas

3.5. Técnicas cuantitativas

Para poder retirar una fracción soluble (colorante) en forma de solución a partir de una fase sólida (semilla de aguacate), permeable e insoluble se utiliza la lixiviación y la operación unitaria de transferencia de masa.

- Reducción de tamaño de la partícula: este término es aplicado a todas las formas en que las partículas de sólidos se pueden cortar o romper en piezas más pequeñas.
- Cribado: la clasificación de sólidos por diámetros se realiza para facilitar las etapas subsecuentes del proceso.
- Secado: en general, el secado de sólidos consiste en separar pequeñas cantidades de agua u otro líquido de un material sólido, con el fin de reducir el contenido de líquido residual hasta un valor aceptablemente bajo.
- Filtración: es la separación de partículas sólidas a partir de un fluido haciendo pasar el fluido a través de un medio filtrante sobre el que se depositan los sólidos.
- Evaporación: el objetivo de la evaporación es concentrar una disolución consistente en un soluto no volátil y un disolvente volátil.

3.5.1. Procedimiento del método de lixiviación por maceración dinámica con reflujo

- Preparación de las semilla fresca oxidada

- a. Homogenizar y cuartear la cantidad de semilla a utilizar.
 - b. Retirar por medio de lavado todos los residuos del aguacate adheridos a la semilla.
 - c. Retirar la epidemis externa (cascarilla) que recubre la semilla.
 - d. Reducir de tamaño la materia prima utilizando un rallador (deberán obtenerse láminas), seguidamente moler en un molino de cuchillas (tipo procesador de alimentos).
 - e. Clasificar la semilla molida utilizando un tamiz No. 20. Descartar los finos.
 - f. Verificar la humedad de las semillas.
- Preparación de la semilla seca oxidada
 - a. Realizar los pasos a, b, c, d, e y f de la preparación de la semilla fresca oxidada.
 - b. Colocar 1 Kg de semilla molida en cada bandeja del secador transversal de bandejas a una temperatura de 35 °C. Las bandejas deberán pesarse cada 24 horas y se retiran del secador cuando alcancen peso constante.
 - c. Verificar la humedad de las muestras de semilla. Deberá ser menor del 10%.

- Preparación de la semilla fresca sin oxidar
 - a. Realizar los pasos a, b y c del procedimiento de la semilla fresca oxidada.
 - b. Preparar las soluciones de solventes a utilizar.
 - c. Reducir de tamaño la materia prima utilizando un rallador de plástico.
 - d. Colocar inmediatamente (menos de 2 minutos), la materia prima en la solución de solvente, en relación sólido solvente 1/10.

- Lixiviación por maceración dinámica con reflujo
 - a. Pesar una muestra de 25 g de semilla y agregarla al balón que deberá contener 250 mL de solvente. Relación semilla-solvente 1/10.
 - b. Medir pH de la solución del paso a.
 - c. Colocar el agitador dentro del balón. Ajustar el balón a la plancha de calentamiento y al condensador con reflujo.
 - d. Ajustar a velocidad promedio de 800 rpm y temperatura de ebullición de cada solvente. El proceso se realiza durante 2 horas.
 - e. Monitorear el pH de la solución, realizando mediciones cada 30 minutos.

- f. Filtrar al vacío con un filtro de manta. Se debe obtener una solución de extracto colorante libre de sólidos y una torta residual.
- g. Evaporar la solución de extractos colorante a temperatura de 60 °C.
- h. Secar en el secador de bandejas la solución concentrada de extracto colorante a 35 °C de temperatura, el tiempo necesario (aproximadamente 24 horas) hasta obtener peso constante.
- i. Retirar el extracto colorante en polvo y pesar.
- j. Reconstituir con alcohol el extracto colorante y proceder a analizar.

3.6. Recolección y ordenamiento de la información producida

La recolección de los datos y su ordenamiento se realizó por medio de la experimentación, observación y medición de las características fisicoquímicas de la fracción colorante de la semilla de aguacate. El método de experimentación utilizado fue la maceración dinámica con reflujo. Los métodos de observación fueron: tamizaje fitoquímico y cromatografía de capa fina. Los datos obtenidos utilizando medición fueron pH, densidad, índice de refracción y rendimiento. Según se muestra en el apéndice B.

3.7. Tabulación ordenamiento y proceso de la información

Los datos recopilados fueron ordenados y procesados según su tipo de coadyuvante y la presentación de la semilla. Las tablas IV, V, VI y VII presentan

los datos clasificados según el tipo de solución alquímica o etanólica. También se presentan los datos al utilizarse agua como solvente. La presentación de la semilla está clasificada en oxidada fresca, sin oxidar fresca y fresca oxidada.

Las tablas IV, V, VI y VII describen las características fisicoquímicas, las características cualitativas y el rendimiento de la fracción colorante de la semilla de aguacate.

3.8. Análisis estadísticos

Un diseño, completamente al azar, con un arreglo combinatorio, en el cual se aplica un experimento factorial, se utilizó para la evaluación estadística.

Se realizó entonces, la lixiviación de la semilla de aguacate utilizando la técnica de maceración dinámica a reflujo constante, con agua, etanol al 35% (v/v), etanol al 70% (v/v), etanol al 95% (v/v), sulfito de sodio al 1% (w/v), sulfito de sodio al 2% (w/v) y tres diferentes estados de la semilla seca oxidada, fresca oxidada y fresca sin oxidar, con 3 repeticiones para cada una resultando en 18 bloques unidades experimentales, y un total de 54 tratamientos. (ver tablas IV, V, VI y VII)

4. RESULTADOS

Las tablas IV, V, VI y VII presentan los datos clasificados según el tipo de solución alquilinica o etanólica. También se presentan los datos al utilizarse agua como solvente. La presentación de la semilla está clasificada en oxidada fresca, sin oxidar fresca y fresca oxidada.

Tabla IV. **Características fisicoquímicas de la fracción colorante de la semilla de aguacate oxidada fresca, lixiviado con agua**

Coadyuvante		Estado de la muestra	Fracción colorante de la semilla de aguacate					
			Características fisicoquímicas					
			pH		Densidad		Índice de refracción	
			Promedio	Desviación estándar	Promedio	Desviación estándar	Promedio	Desviación estándar
Agua	Agua	oxi dada fr esca	5,783	0,058	0,974	0,000	1,337	0,000
	Agua	sin oxidar fresca	5,803	0,040	0,971	0,000	1,337	0,000
	Agua	seca oxidada	5,673	0,040	0,974	0,000	1,340	0,000
Soluciones alcohólicas	Etanol 35%	oxi dada fr esca	5,883	0,104	0,939	0,000	1,354	0,000
	Etanol 35%	sin oxidar fresca	5,887	0,125	0,938	0,000	1,355	0,000
	Etanol 35%	seca oxidada	4,950	0,180	0,943	0,000	1,354	0,001
	Etanol 70%	oxi dada fr esca	6,147	0,099	0,893	0,000	1,365	0,000
	Etanol 70%	sin oxidar fresca	5,947	0,155	0,896	0,000	1,364	0,001
	Etanol 70%	seca oxidada	5,487	0,325	0,884	0,000	1,364	0,001
	Etanol 95%	oxi dada fr esca	6,310	0,010	0,822	0,000	1,366	0,001
	Etanol 95%	sin oxidar fresca	6,177	0,023	0,798	0,000	1,366	0,000
	Etanol 95%	seca oxidada	5,767	0,119	0,804	0,000	1,366	0,001
Soluciones alcalinas	Sulfito de sodio 1%	oxi dada fr esca	7,170	0,072	0,974	0,000	1,345	0,001
	Sulfito de sodio 1%	sin oxidar fresca	7,250	0,132	0,973	0,000	1,340	0,001
	Sulfito de sodio 1%	seca oxidada	6,430	0,365	0,974	0,001	1,342	0,000
	Sulfito de sodio 2%	oxi dada fr esca	8,240	0,113	0,973	0,000	1,341	0,001
	Sulfito de sodio 2%	sin oxidar fresca	7,883	0,047	0,971	0,000	1,335	0,000
	Sulfito de sodio 2%	seca oxidada	7,783	0,076	0,974	0,000	1,340	0,000

Fuente: elaboración propia.

Tabla V. Tamizaje fitoquímico de la fracción colorante de la semilla de aguacate

Metabolitos analizados	Resultados de ensayos macro	Observación
Flavonoides y antocianinas	+++	Cambio de coloración con Mg y HCl, calentamiento y H ₂ SO ₄
Antraquinonas	----	No se observó anillo rojo en la interfase
Cumarinas	----	No se observó fluorescencia con KOH
Taninos	+++	Se observó precipitado con NaCl, gelatina- NaCl y cambio de coloración con FeCl ₃

Fuente: elaboración propia.

Tabla VI. Cromatografía de capa fina de la fracción colorante de la semilla de aguacate

Coadyuvante		Estado de la muestra	Fracción colorante de la semilla de aguacate		
			Características cualitativas		
			Cromatografía de capa fina		
			Rf	Observación en Vis	Observación en UV
Agua	Agua	oxidada fresca	0,24, 0,55	Se presenta una banda color rojo café y una banda muy tenue	No presenta fluorescencia
	Agua	sin oxidar fresca	0,24	Se presenta una banda muy tenue	No presenta fluorescencia
	Agua	seca oxidada	0,24, 0,55	Se presenta una banda color rojo café y una banda muy tenue	No presenta fluorescencia
Soluciones Alcohólicas	Etanol 35%	oxidada fresca	0,24, 0,55	Se presenta una banda color rojo café intensa y una banda muy tenue	No presenta fluorescencia
	Etanol 35%	sin oxidar fresca	0,24, 0,83	Se presentan dos bandas muy tenues	No presenta fluorescencia
	Etanol 35%	seca oxidada	0,24, 0,55, 0,83	Se presenta una banda color rojo café intensa	No presenta fluorescencia
	Etanol 70%	oxidada fresca	0,24	Se presenta una banda tenue	No presenta fluorescencia
	Etanol 70%	sin oxidar fresca	0,24, 0,55, 0,83	Se presentan 3 bandas muy tenues	No presenta fluorescencia
	Etanol 70%	seca oxidada	0,24	Se presenta una banda tenue	No presenta fluorescencia
	Etanol 95%	oxidada fresca	0,24	Se presenta una banda muy tenue	No presenta fluorescencia
	Etanol 95%	sin oxidar fresca	0,24, 0,55	Se presenta una banda color rojo café intensa y una banda muy tenue	No presenta fluorescencia
	Etanol 95%	seca oxidada	0,24	Se presenta una banda muy tenue	No presenta fluorescencia

Continuación de la tabla VI.

Soluciones Alcalinas	Sulfito de Sodio 1%	oxidada fresca	0,24, 0,55	Se presenta una banda color rojo-café intensa	No presenta fluorescencia
	Sulfito de Sodio 1%	sin oxidar fresca	0,24, 0,55	Se presenta una banda color rojo café intensa y una banda muy tenue	No presenta fluorescencia
	Sulfito de Sodio 1%	seca oxidada	0,24, 0,55	Se presenta una banda color rojo café y una banda muy tenue	No presenta fluorescencia
	Sulfito de Sodio 2%	oxidada fresca	0,24, 0,55	Se presenta una banda color rojo café y una banda muy tenue	No presenta fluorescencia
	Sulfito de Sodio 2%	sin oxidar fresca	0,24, 0,55	Se presenta una banda color rojo-café intensa y una banda color naranja muy tenue	No presenta fluorescencia
	Sulfito de Sodio 2%	seca oxidada	0,24, 0,55	Se presenta una banda color rojo café intensa y una banda muy tenue	No presenta fluorescencia

Fuente: elaboración propia.

Tabla VII. Rendimiento porcentual promedio de la fracción colorante de la semilla de aguacate

	Coadyuvante	Estado de la muestra	Fracción colorante de la semilla de aguacate			
			Rendimiento (g)			
			Rendimiento 1	Rendimiento 2	Promedio	Desviación estándar
Agua	Agua	oxidada fresca	8,320	6,120	7,220	1,556
	Agua	sin oxidar fresca	7,920	5,920	6,920	1,414
	Agua	seca oxidada	6,320	6,120	6,220	0,141
Soluciones Alcohólicas	Etanol 35%	oxidada fresca	6,000	6,640	6,320	0,453
	Etanol 35%	sin oxidar fresca	11,200	6,400	8,800	3,394
	Etanol 35%	seca oxidada	13,000	8,200	10,600	3,394
	Etanol 70%	oxidada fresca	5,920	6,550	6,235	0,445
	Etanol 70%	sin oxidar fresca	0,800	1,240	1,020	0,311
	Etanol 70%	seca oxidada	5,900	4,640	5,270	0,891
	Etanol 95%	oxidada fresca	2,920	1,720	2,320	0,849
	Etanol 95%	sin oxidar fresca	6,160	2,920	4,540	2,291
	Etanol 95%	seca oxidada	1,900	3,400	2,650	1,061

Continuación de la tabla VII.

Soluciones Alcalinas	Sulfito de Sodio 1%	oxidada fresca	12,560	7,400	9,980	3,649
	Sulfito de Sodio 1%	sin oxidar fresca	6,400	8,800	7,600	1,697
	Sulfito de Sodio 1%	seca oxidada	12,360	17,480	14,920	3,620
	Sulfito de Sodio 2%	oxidada fresca	7,200	7,920	7,560	0,509
	Sulfito de Sodio 2%	sin oxidar fresca	11,880	11,120	11,500	0,537
	Sulfito de Sodio 2%	seca oxidada	6,320	17,280	11,800	7,750

Fuente: elaboración propia.

5. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Utilizando el procedimiento de lixiviación por maceración dinámica con reflujó, se extrajo la fracción colorante de la semilla de aguacate en tres diferentes presentaciones (seca oxidada, fresca oxidada y fresca sin oxidar) a nivel laboratorio, utilizando como coadyuvantes soluciones de etanol y de sulfito de sodio y, como solvente, el agua. La semilla se utilizó en un tamaño aproximado de 840 micrómetros y en relación 1: 10 (w/v). La lixiviación se realizó durante un tiempo de dos horas y a temperatura de ebullición de cada solución.

Se determinaron la densidad, índice de refracción y el porcentaje de rendimiento de la fracción colorante y sus características físicoquímicas, en función del coadyuvante utilizado y el estado de la semilla. La densidad y el índice de refracción que se obtienen, cambian significativamente al cambiar el coadyuvante y el tipo de muestra, pero hay interacción, es decir, el efecto de la densidad y el índice de refracción no es paralelo entre coadyuvantes y la presentación de la semilla. En los coadyuvantes, a excepción del agua y la solución de sulfito de sodio al 2%, en las que se observa una densidad similares (0,973g/mL), los demás coadyuvantes producen densidades diferentes en el siguiente orden:

- Solución de etanol al 95% (0,808 g/mL)
- Solución de etanol al 70% (0,891g/mL)
- Solución de etanol al 35% (0,94 g/mL)
- Solución de sulfito de sodio al 1% (0,974 g/mL)

Respecto al tipo de muestra, las tres presentaciones producen densidad diferente:

- La semilla sin oxidar fresca produce la menor densidad (0,9247 g/mL)
- La semilla oxidada seca produce la densidad intermedia (0,9254 g/mL)
- La semilla oxidada fresca produce la mayor densidad (0,9292 g/mL)

Para el índice de refracción se observan las mismas tendencias descritas anteriormente para la densidad.

Los resultados en la tabla VI, presentan las características fisicoquímicas de la fracción colorante líquida de la semilla de aguacate, utilizando diferentes soluciones para la lixiviación y en sus tres presentaciones.

En todos los procesos de lixiviación, que el extracto presenta precipitado insoluble, observándose en mayor cantidad cuando se utilizan soluciones de sulfito de sodio, seguidamente en las lixiviadas en agua, y para las soluciones de etanol el precipitado es mínimo. Cuando la lixiviación se realiza con sulfito de sodio, la muestra de la semilla de aguacate pierde su forma original aumentando su tamaño formando un gel, esto hace difícil su separación por medio de la filtración y da como resultado un extracto líquido turbio. Cuando la lixiviación se realiza con agua, la muestra de la semilla de aguacate también pierde su forma original, pero no en su totalidad, de tal forma que el gel formado es de menor cantidad; sin embargo, se obtiene un extracto colorante líquido turbio. Cuando la lixiviación se realiza con soluciones de etanol, la muestra de la semilla de aguacate, mantiene su forma original y sufre deshidratación. Al filtrar este tipo de extractos la solución colorante líquida obtenida es clara. Lo expuesto anteriormente afecta directamente el rendimiento del colorante. Como puede observarse en la tabla X, los rendimientos obtenidos al realizar la

lixiviación con sulfito de sodio son mayores; sin embargo, no se cuenta con la separación total del gel formado, siendo que, al secarse éste afecta los resultados. De igual forma con las lixivaciones realizadas con agua, los rendimientos obtenidos se ven afectados. Se observa entonces, que al variar la presentación de la semilla no existe diferencia significativa en el rendimiento de la fracción colorante de la semilla de aguacate. Mientras que realizar la lixiviación con diferente coadyuvante, sí existe diferencia significativa en el rendimiento de la fracción colorante de la semilla de aguacate.

El mayor rendimiento se obtiene al utilizar la solución de sulfito de sodio al 1% y la semilla seca oxidada, un rendimiento inferior se obtiene al usar la solución de sulfito de sodio al 2% y la semilla seca oxidada. Los rendimientos menores se obtienen al utilizar las soluciones de etanol al 70% y 95% en las tres presentaciones de semilla de aguacate y rendimientos intermedios al utilizar soluciones de etanol al 35% y agua.

El color de la fracción colorante líquida se ve afectado por el tipo de coadyuvante que se utilice en la lixiviación, esto se debe al pH en que se realiza la lixiviación. De tal forma que al aumentar el pH el color se intensifica tornándose en café oscuro. Por lo tanto, las fracciones colorantes líquidas obtenidas de la lixiviación con soluciones etanólicas, tienen colores tipo miel y las fracciones colorantes líquidas lixiviadas con sulfito de sodio, tienen colores cafés rojizos o tonos ladrillo; a excepción de la semilla sin oxidar fresca lixiviada con las soluciones de sulfito de sodio al 1 y 2% que se tornan blanquecinas. La semilla de aguacate es de forma redonda, recubierta por la cubierta seminal y está formada por dos cotiledones, los cuales están separados por el eje embrionario. Estos cotiledones pueden ser separados y mantenerse libres de cualquier efecto del ambiente sobre ellos, gracias a la acción impermeable de la cubierta seminal. Al momento de separar ésta cubierta, por efecto del corte en

la semilla, se desencadena una reacción enzimática oxidando completamente la porción de semilla expuesta al aire al cabo de 5 minutos. Si esta semilla se introduce dentro de una solución de sulfito de sodio, antes de este tiempo, la reacción se detiene y la semilla no se oxida. De esta cuenta el extracto colorante obtenido es blanquecino.

Todo esto se debe a las reacciones de los colorantes que contiene la semilla de aguacate ante diferentes factores, como las siguientes:

- La acidez, a la que los flavonoides son muy sensibles.
- Los efectos de los iones metálicos son también determinantes puesto que, al ser cortada y expuesta al aire, la semilla de aguacate cambia de color.
- El sulfito de sodio afecta directamente los resultados al formar compuestos de adición con los flavonoides.

Es así que, las reacciones enzimáticas que sufre la semilla de aguacate son determinantes en el color del extracto colorante obtenido.

Al realizar el tamizaje fitoquímico de los extractos colorantes líquidos de la semilla de aguacate en todas sus presentaciones, se identificó la presencia de taninos y flavonoides. En la prueba de taninos se formaron precipitados con gelatina, gelatina sal y cambio de coloración con cloruro férrico. En la prueba con hidróxido de potasio no se observó fluorescencia en ninguno de los extractos ni bandas características a cumarinas. En los análisis cualitativos no se detectó presencia de antraquinonas y cumarinas.

CONCLUSIONES

1. Sí hay diferencia significativa en la densidad del extracto colorante obtenido de la semilla de aguacate en función del coadyuvante utilizado.
2. Para los valores de densidad del extracto colorante obtenido de la semilla de aguacate, sí hay diferencia significativa en función de la humedad y el grado de oxidación de la muestra.
3. En los coadyuvantes, a excepción del agua y el sulfito de sodio al 2% que producen la misma densidad del extracto colorante de la semilla de aguacate, producen densidades diferentes.
4. Sí hay diferencia significativa en el índice de refracción del extracto colorante obtenido de la semilla de aguacate en función del coadyuvante utilizado.
5. Sí hay diferencia significativa en el índice de refracción del extracto colorante obtenido de la semilla de aguacate en función de la humedad y el grado de oxidación de la muestra.
6. En los coadyuvantes, a excepción del agua y el sulfito de sodio al 2% que producen el mismo índice de refracción del extracto colorante de la semilla de aguacate, producen índices de refracción diferentes.

7. En el rendimiento obtenido del extracto colorante de la semilla de aguacate existe efecto del coadyuvante, no así del tipo de muestra. Es decir, que el rendimiento que se obtiene depende del coadyuvante utilizado, pero no del tipo de muestra.
8. Respecto a los coadyuvantes, el mayor rendimiento se obtiene al utilizar sulfito de sodio al 1% o sulfito al 2%.
9. Los rendimientos menores se obtienen al utilizar alcohol al 70% o alcohol al 90%.
10. En todas las muestras de extracto colorante de la semilla de aguacate existe presencia de taninos y flavonoides y no existe presencia de cumarinas y antraquinonas al realizar el análisis mediante el tamizaje fitoquímico.

RECOMENDACIONES

1. Obtener el extracto colorante de la semilla de aguacate a nivel planta piloto, para evaluar rendimientos y calidad de los mismos.
2. Aplicar los extractos colorantes obtenidos de la semilla de aguacate en el proceso de tinción de fibras naturales.
3. Reducir el tiempo de lixiviación con sulfito de sodio, para evaluar la reducción de la formación de gel de la semilla de aguacate.
4. Considerar un método de filtración adecuado, en el que pueda separarse la gel obtenida del extracto colorante en su totalidad.
5. Evaluar la acción de los coadyuvantes sobre el almidón de la semilla de aguacate.
6. Aplicar los extractos colorantes obtenidos de la semilla de aguacate en el proceso de tinción de fibras naturales, a diferente pH.

BIBLIOGRAFÍA

1. ADRIAN, Jane, et al. *La ciencia de los alimentos de la A a la Z*. España: Acribia, 1990. 317 p. ISBN 8420006734.
2. *Antioxidantes*. [en línea] <http://www.alimentacionsana.com>. [Consulta: 17 de agosto de 2010].
3. *Antioxidantes*. [en línea] <http://www.geosalud.com>. [Consulta: 17 de agosto de 2010].
4. *Biocolor*. [en línea] <http://www.geocities.com/mibancodecasos/casos/biocolor.doc>. [Consulta: 10 de noviembre de 2010].
5. BRUNETON, Jean, et al. *Farmacognosia*. España: Acribia, 1991. 1099 p. ISBN 8420009563.
6. CÁCERES, Armando. *Plantas de uso medicinal en Guatemala*. Guatemala: Editorial Universitaria, 1996. 402 p.
7. _____. *Cultivo del aguacate en Guatemala*. Dirección de Investigación Agrícola de Guatemala, Departamento de divulgación agrícola de Guatemala. Boletín técnico No. 25, 1971. 24 p.

8. CHARLEY, Helen. *Tecnología de alimentos: procesos químicos y físicos en la preparación de alimentos*. México: Limusa, 2005. 767 p. ISBN 9681819535.
9. *Colorante natural de maíz morado*. [en línea] [http://www.emprendedoresperu.com / ideanegocio_colorante](http://www.emprendedoresperu.com/ideanegocio_colorante). [Consulta: 24 de enero de 2010].
10. *Colorantes naturales*. [en línea] <http://www.soapyworld.com>. [Consulta: 17 de agosto de 2010].
11. *Colorantes naturales*. [en línea] <http://spanish.korea.net> [Consulta: 10 de noviembre de 2010].
12. *Espectrofotometría*. [en línea] http://www.exa.unne.edu.ar/.../química.analitica/arch_descargas/arch_seminarios2006/EspectrofotometriaGralPasotti.doc. [Consulta: 10 noviembre de 2010].
13. *Espectrofotometría*. [en línea] <http://www.frlp.utn.edu.ar/materias/qcasis/mostracion2.html>. [Consulta: 29 de octubre de 2010].
14. *Estudio de las propiedades de la semilla de aguacate (persea americana) variedad Hass, para el aprovechamiento integral del fruto*. [en línea] http://respyn.vanl.mx/especiales/2007/22-12-2007/documentos_CNCA_2007.33.pdf. [Consulta: 11 de noviembre de 2010].

15. GARCÍA, José A. *Estructura de la semilla de aguacate y cuantificación de la grasa extraída por diferentes técnicas*. [en línea] <http://www.avocadosource.com>. [Consulta: 11 de noviembre de 2010].
16. LOZOYA, Xavier. *Flora medicinal de México*. México: Publicación del Instituto Mexicano de Seguridad Social, 1982. 112 p.
17. MADRID VICENTE, Antonio; MADRID CENZANO, Javier. *Los aditivos en los alimentos: según la Unión Europea y la Legislación Española*. Madrid: Mundi-Prensa, 2000. 351 p. ISBN 8471148978.
18. MCCABE, Warren. *Operaciones básicas de ingeniería química*. Madrid: Reverté, 1991. 502 p. ISBN 8429173617.
19. Ministerio de Agricultura Ganadería y Alimentación. *Programa de apoyo a los agronegocios*. Guatemala: MAGA, 2007 36 p.
20. PERRY, Robert; GREEN, Jon; MALONEY, James. *Manual del ingeniero químico*. 2a ed. Colombia: McGraw-Hill, 1998. 365 p. ISBN 8448130081.
21. PINEDA, Devia; ENRIQUE, Jorge; SALDARRIAGA, Diego Fernando. *Proceso para obtener colorante a partir de la semilla de aguacate*. Colombia: Universidad EAFIT, 2005. 360 p.

22. POKORNY, Jan; YANISHLIEVA, Nedyalka; GORDON Michael. *Antioxidantes de los alimentos: aplicaciones prácticas*. España: Acribia, 2005. 364 p. ISBN 842001043X.
23. SHARAPPIN, Nikolao. *Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos*. Colombia: Cytel, 2000. 251 p. ISBN 9586480014.
24. TREYBAL, Robert. *Operaciones de transferencia de masa*. México: McGraw-Hill, 1988. 858 p. ISBN 9686046348.
25. VACLAVIK Vickie A.; CHRISTIAN, Elizabeth W.; MORENO, Isabel. *Fundamentos de ciencia de los alimentos*. España: Acribia, 2002. 485 p. ISBN 8420009768.
26. VÁSQUEZ, Josué. *Caracterización agronómica y fisicoquímica del aguacate nativo en el altiplano occidental guatemalteco*. Guatemala: MAGA, ICTA, 2000. 86 p.
27. VANACLOCHA, Bernat; CAÑIGUERAL, Salvador. *Vademécum de Fitoterapia de prescripción*. 4a ed. España: Masson, 2003. 1236 p. ISBN 9788445812204.
28. VELÁSQUEZ, Mario René. *Floración del aguacate y recomendaciones sobre su cultivo*. Guatemala: Dirección de Investigación Agrícola, Departamento de Divulgación Agrícola de Guatemala. Boletín técnico No. 29, 1971. 32 p.

29. _____. *Manual para la caracterización y análisis de drogas vegetales y productos Fitoterapéuticos*. Guatemala: Editorial Universitaria, USAC, 1995. 150 p.
30. WONG, Dominic. *Química de los alimentos mecanismos y teoría*. 2a ed. España: Acribia, 1995. 476 p. ISBN 9702606705.

APÉNDICES

Apéndice A. Soluciones etanólicas

Al preparar las soluciones etanólicas usadas en la lixiviación de la semilla de aguacate, se encuentra que el volumen de estas soluciones se ve afectado por la densidad del alcohol.

Es decir, la densidad del alcohol es 0.79 g/mL. Si se disuelve 30 mL de alcohol en 70 mL de agua, obtenemos 98 mL de solución con una densidad de 0,96 g/mL y una concentración en volumen del 34,47%

Así entonces los porcentajes reales de concentración en las soluciones etanólicas utilizadas son:

Porcentaje real en volumen de soluciones etanólica

Solución etanólica usada (%)	Densidad g/mL	% real en volumen de solución
95	0,80	96,79
70	0,87	69,01
35	0,94	38,33

Fuente: elaboración propia.

Apéndice B. Datos originales

Datos originales

Solvente	Muestra (semilla)	Rendimiento (Extracto-semilla)	pH					Temperatura de ebullición	Temperatura de ebullición con semilla	
	Estado de la muestra		Inicio	Al agregar semilla	30 min	60 min	90 min			120 min
Agua	oxidada fresca	6,12	6,91	6,17	5,96	5,85	5,8	5,8	96	96
Agua	sin oxidar fresca	5,92	6,91	6,18	5,96	5,85	5,8	5,8	96	94
Agua	seca oxidada	6,12	6,91	6,06	5,8	5,72	5,7	5,7	96	96
Alcohol 35%	oxidada fresca	6,64	6,57	6,26	6,07	6	5,9	5,8	82	82
Alcohol 35%	sin oxidar fresca	6,4	6,57	6,28	6,09	6,03	5,8	5,8	82	80
Alcohol 35%	seca oxidada	8,2	6,57	5,77	5,25	5,15	4,9	4,8	82	82
Alcohol 70%	oxidada fresca	6,55	7,34	6,77	6,57	6,26	6,1	6,1	77	77
Alcohol 70%	sin oxidar fresca	1,24	7,34	6,89	6,66	6,12	5,9	5,8	77	76
Alcohol 70%	seca oxidada	4,64	7,34	6,25	6	5,86	5,3	5,3	77	77
Alcohol 95%	oxidada fresca	1,72	7,68	6,77	6,62	6,31	6,3	6,3	74	74
Alcohol 95%	sin oxidar fresca	2,92	7,68	6,7	6,23	6,19	6,2	6,2	74	74
Alcohol 95%	seca oxidada	3,4	7,68	6,46	6,3	5,9	5,7	5,7	74	74
Sulfito de sodio 1%	oxidada fresca	7,4	9,2	8,18	7,6	7,25	7,2	7,1	94	94
Sulfito de sodio 1%	sin oxidar fresca	8,8	9,2	8,04	7,93	7,4	7,2	7,2	94	94
Sulfito de sodio 1%	seca oxidada	17,48*	9,2	7,54	7,35	6,85	6,3	6,2	94	94
Sulfito de sodio 2%	oxidada fresca	7,92*	9,61	8,36	8,08	8,11	8,3	8,3	96	96
Sulfito de sodio 2%	sin oxidar fresca	11,12*	9,61	8	7,86	7,83	7,9	7,9	96	95
Sulfito de sodio 2%	seca oxidada	17,28*	9,61	7,86	7,77	7,7	7,9	7,8	96	96

Continuación del apéndice B.

		Características fisicoquímicas								Características cualitativas		
Coadyuvante	Estado de la muestra	Extracto colorante de la semilla de aguacate								Cromatografía de capa fina		
		densidad 1	densidad 2	densidad 3	índice de refracción 1	índice de refracción 2	índice de refracción 3	Rendimiento 1	Rendimiento 2	Rf	Observación en Vis	Observación en UV
Agua	Agua oxiada fresca	0.9737	0.9735	0.9737	1.337	1.337	1.337	8.32	6.12	0.24, 0.55	Se presenta una banda color rojo café y una banda muy tenue	No presenta fluorescencia
	Agua sin oxidar fresca	0.9717	0.9717	0.971	1.337	1.337	1.337	7.92	5.92	0.24	Se presenta una banda muy tenue	No presenta fluorescencia
	Agua seca oxiada	0.9735	0.9737	0.9737	1.34	1.34	1.34	6.32	6.12	0.24, 0.55	Se presenta una banda color rojo café y una banda muy tenue	No presenta fluorescencia
Soluciones Alcohólicas	Alcohol 35% oxiada fresca	0.9396	0.9392	0.939	1.354	1.354	1.354	6	6.64	0.24, 0.55	Se presenta una banda color rojo café intensa y una banda muy tenue	No presenta fluorescencia
	Alcohol 35% sin oxidar fresca	0.938	0.9386	0.9382	1.3545	1.3545	1.3545	11.2	6.4	0.24, 0.83	Se presentan dos bandas muy tenues	No presenta fluorescencia
	Alcohol 35% seca oxiada	0.9435	0.9435	0.943	1.3545	1.3545	1.352	13	8.2	0.24, 0.55, 0.83	Se presenta una banda color rojo café intensa	No presenta fluorescencia
	Alcohol 70% oxiada fresca	0.892	0.8928	0.8928	1.3645	1.3645	1.3645	5.92	6.55	0.24	Se presenta una banda tenue	No presenta fluorescencia
	Alcohol 70% sin oxidar fresca	0.895	0.8958	0.8958	1.3645	1.362	1.3645	0.8	1.24	0.24, 0.55, 0.83	Se presentan 3 bandas muy tenues	No presenta fluorescencia
	Alcohol 70% seca oxiada	0.884	0.8841	0.8841	1.3645	1.3645	1.362	5.9	4.64	0.24	Se presenta una banda tenue	No presenta fluorescencia
	Alcohol 95% oxiada fresca	0.822	0.8227	0.8227	1.367	1.366	1.367	2.92	1.72	0.24	Se presenta una banda muy tenue	No presenta fluorescencia
	Alcohol 95% sin oxidar fresca	0.798	0.7984	0.7984	1.365	1.366	1.366	6.16	2.92	0.24, 0.55	Se presenta una banda color rojo café intensa y una banda muy tenue	No presenta fluorescencia
	Alcohol 95% seca oxiada	0.804	0.8042	0.8042	1.365	1.366	1.365	1.9	3.4	0.24	Se presenta una banda muy tenue	No presenta fluorescencia
Soluciones Alcalinas	Sulfito de Sodio 1% oxiada fresca	0.974	0.9741	0.9741	1.345	1.346	1.345	12.56	7.4	0.24, 0.55	Se presenta una banda color rojo-café intensa	No presenta fluorescencia
	Sulfito de Sodio 1% sin oxidar fresca	0.973	0.9737	0.9737	1.34	1.341	1.34	6.4	8.8	0.24, 0.55	Se presenta una banda color rojo café intensa y una banda muy tenue	No presenta fluorescencia
	Sulfito de Sodio 1% seca oxiada	0.973	0.9739	0.9739	1.342	1.342	1.342	12.36	17.48	0.24, 0.55	Se presenta una banda color rojo café y una banda muy tenue	No presenta fluorescencia
	Sulfito de Sodio 2% oxiada fresca	0.973	0.9734	0.9734	1.341	1.341	1.34	7.2	7.92	0.24, 0.55	Se presenta una banda color rojo café y una banda muy tenue	No presenta fluorescencia
	Sulfito de Sodio 2% sin oxidar fresca	0.971	0.9712	0.9712	1.335	1.335	1.335	11.88	11.12	0.24, 0.55	Se presenta una banda color rojo-café intensa y una banda color naranja muy tenue	No presenta fluorescencia
	Sulfito de Sodio 2% seca oxiada	0.9737	0.9737	0.9737	1.34	1.34	1.34	6.32	17.28	0.24, 0.55	Se presenta una banda color rojo café intensa y una banda muy tenue	No presenta fluorescencia

Fuente: elaboración propia.

Apéndice C. Análisis estadístico (programa SAS)

Los análisis estadísticos elaborados se basaron en el análisis de varianza (ANDEVA) y la prueba de Duncan; para ello se utilizó el programa SPSS (*Statistical Package for the Social Science*).

Análisis de varianza para la densidad de la fracción colorante de la semilla de aguacate

Fuente	Suma de cuadrados tipo III	GI	Media cuadrática	F	Significación
Coadyuvante	0,198	5	0,040	438 340,861	0,000
Muestra	0,000	2	0,000	1 174,906	0,000
Coadyuvante * muestra	0,001	10	0,000	1 132,048	0,000
Error	3,25E-006	36	9,02E-008	---	---
Total corregida	0,199	53		---	---

Comparación múltiple de medias con el criterio de Duncan para densidad de la fracción colorante de la semilla de aguacate en función de la presentación de la semilla

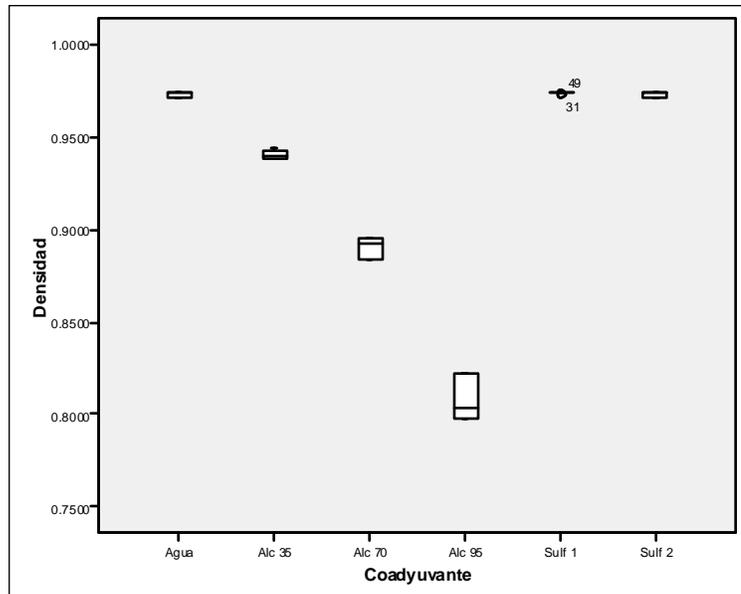
Muestra	N	Subconjunto		
	1	2	3	1
Sin oxidar fresco	18	0,924689		
oxidada seca	18		0,925411	
oxidada fresca	18			0,929206
Significación		1,000	1,000	1,000

Continuación del apéndice C.

Comparación múltiple de medias con el criterio de Duncan para densidad de la fracción colorante de la semilla de aguacate en función del coadyuvante

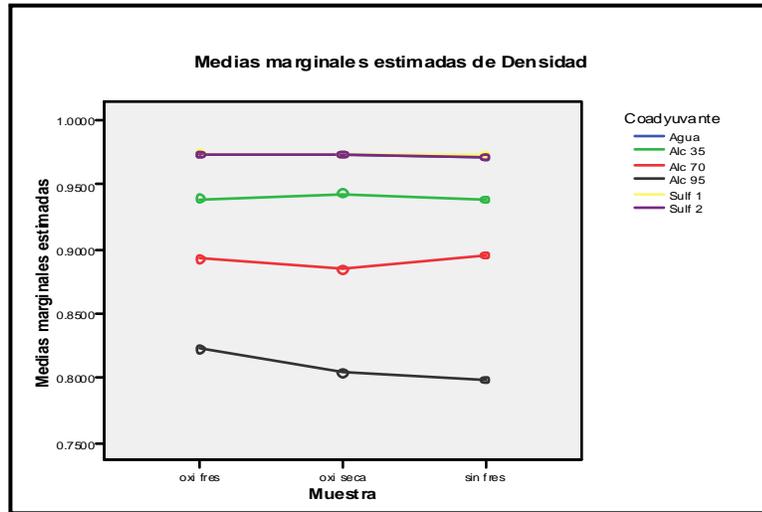
Coadyuvante	N	Subconjunto				
	1	2	3	4	5	1
Alcohol 95%	9	0,808289				
Alcohol 70%	9		0,890711			
Alcohol 35%	9			0,940289		
Sulfito de sodio 2%	9				0,972700	
Agua	9				0,972911	
Sulfito de sodio 1%	9					0,973711
Significación		1,000	1,000	1,000	0,145	1,000

Distribución de los resultados experimentales de la densidad de la fracción colorante de la semilla de aguacate, en función del coadyuvante utilizado

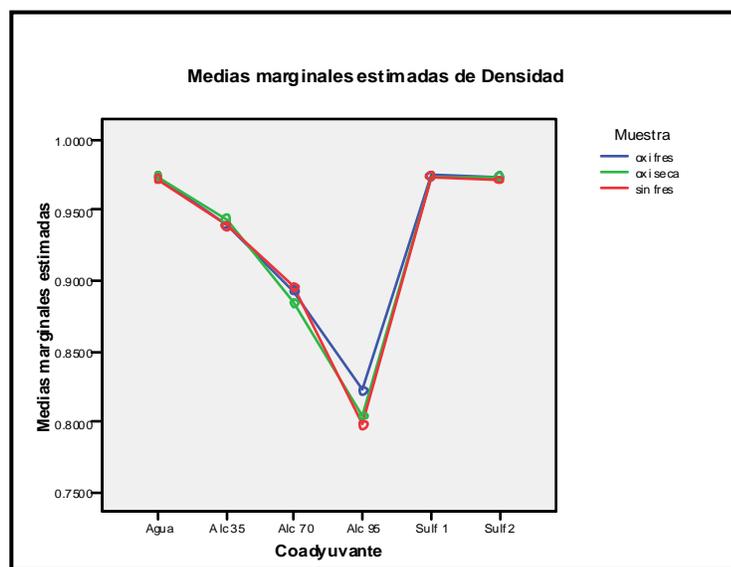


Continuación del apéndice C.

Medias marginales estimadas de densidad de la fracción colorante de la semilla de aguacate en función del estado de la semilla utilizado



Medias marginales estimadas de densidad de la fracción colorante de la semilla de aguacate en función del coadyuvante utilizado



Continuación del apéndice C.

Análisis de varianza para el índice de refracción de la fracción colorante de la semilla de aguacate

Fuente	Suma de cuadrados tipo III	GI	Media cuadrática	F	Significación
Coadyuvante	,007	5	,001	2891,207	0,000
Muestra	3,48E-005	2	1,74E-005	35,112	0,000
Coadyuvante * muestra	8,28E-005	10	8,28E-006	16,708	0,000
Error	1,78E-005	36	4,95E-007		
Total corregida	0,007	53			

Comparación múltiple de medias con el criterio de Duncan para índice de refracción de la fracción colorante de la semilla de aguacate según el coadyuvante

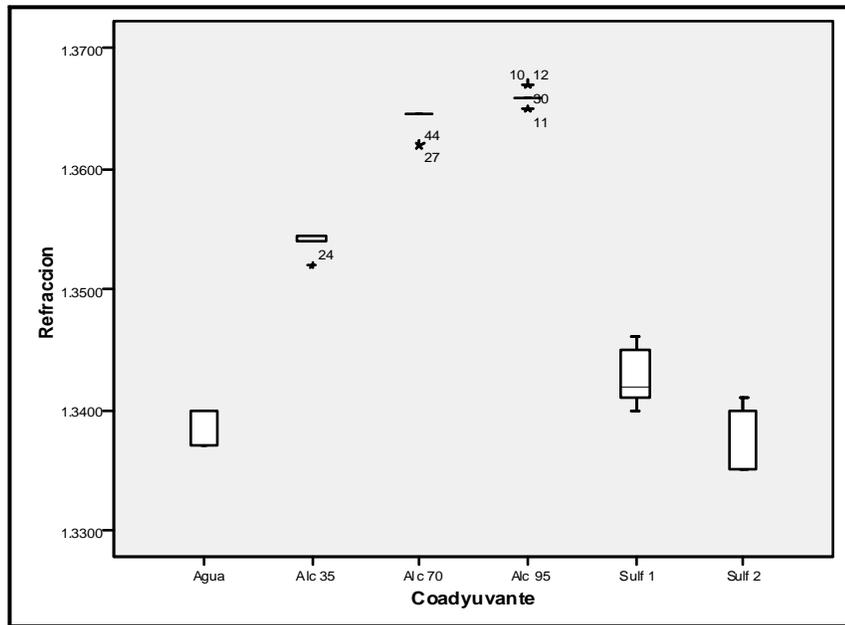
Coadyuvante	N	Subconjunto				
	1	2	3	4	5	1
Alcohol 95%	9	1,338000				
Alcohol 70%	9	1,338556				
Alcohol 35%	9		1,342556			
Sulfito de sodio 2%	9			1,354056		
Agua	9				1,363944	
Sulfito de sodio 1%	9					1,366000
Significación		0,103	1,000	1,000	1,000	1,000

Continuación del apéndice C.

Comparación múltiple de medias con el criterio de Duncan para índice de refracción de la fracción colorante de la semilla de aguacate según la presentación de la semilla

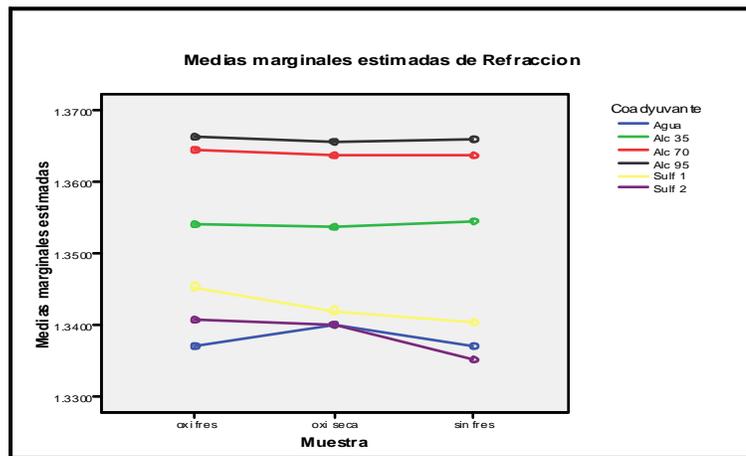
Muestra	N	Subconjunto	
	1	2	1
Sin oxidar fresco	18	1,349417	
oxidada seca	18		1,350833
oxidada fresco	18		1,351306
Significación		1,000	0,052

Distribución de los resultados experimentales del índice de refracción de la fracción colorante de la semilla de aguacate, en función del coadyuvante utilizado

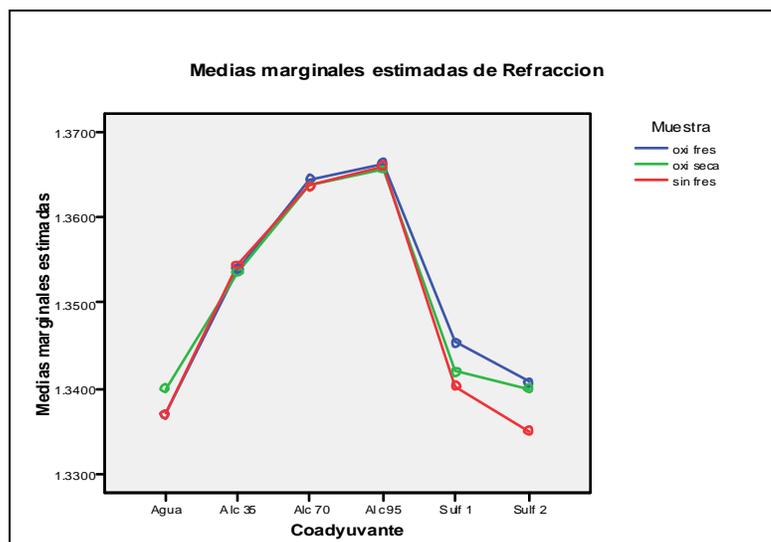


Continuación del apéndice C.

Medias marginales estimadas del índice de refracción de la fracción colorante de la semilla de aguacate en función del estado de la semilla utilizado



Medias marginales estimadas del índice de refracción de la fracción colorante de la semilla de aguacate en función del coadyuvante utilizado



Continuación del apéndice C.

Análisis de Varianza para el rendimiento de la fracción colorante de la semilla de aguacate

Fuente	Suma de cuadrados tipo III	GI	Media cuadrática	F	Significación
Coadyuvante	300,672	5	60,134	8,606	,000
Muestra	29,239	2	14,620	2,092	,152
Coadyuvante * Muestra	104,981	10	10,498	1,502	,217
Error	125,776	18	6,988		
Total corregida	560,668	35			

Comparación múltiple de medias con el criterio de Duncan para rendimiento de la fracción colorante de la semilla de aguacate según el coadyuvante

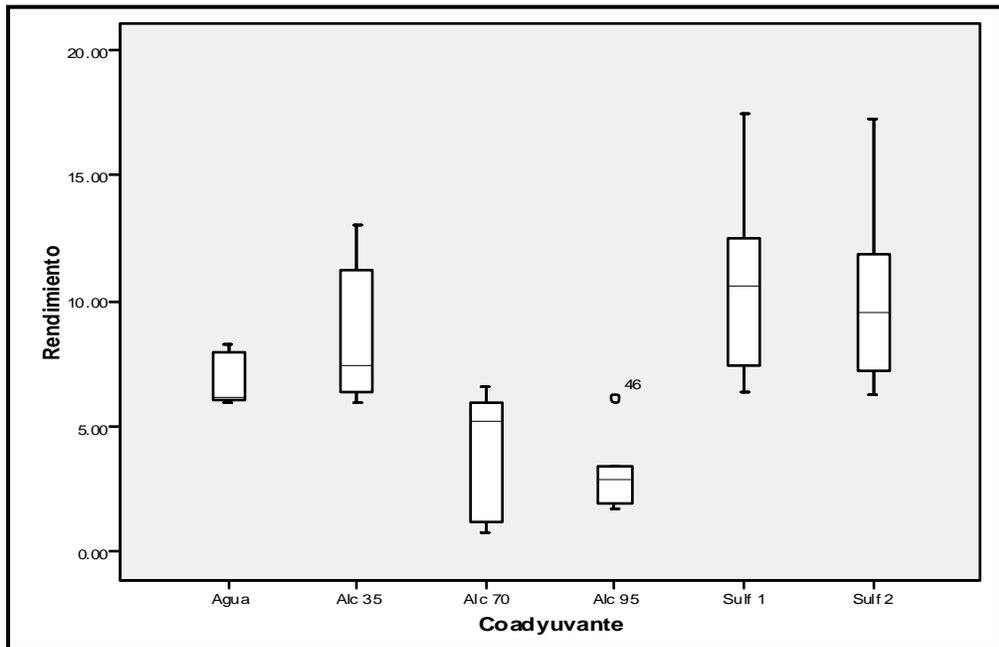
Coadyuvante	N	Subconjunto			
	1	2	3	4	1
Alcohol 95%	6	3,1700			
Alcohol 70%	6	4,1750	4,1750		
Agua	6		6,7867	6,7867	
Alcohol 35%	6			8,5733	8,5733
Sulfito de sodio 2%	6				10,2867
Sulfito de sodio 1%	6				10,8333
Significación		0,519	0,104	0,257	0,177

Continuación del apéndice C.

Comparación múltiple de medias con el criterio de Duncan para el rendimiento de la fracción colorante de la semilla de aguacate según la presentación de la semilla

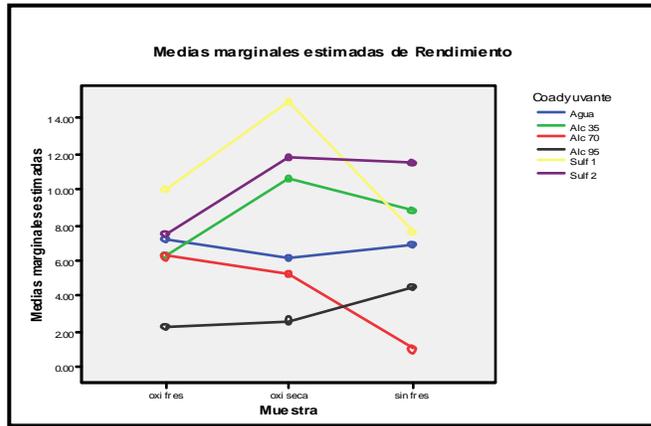
Muestra	N		Subconjunto	
		1		1
oxidada fresco		12		6,6058
Sin oxidar fresco		12		6,7300
Oxidada seca		12		8,5767
Significación				0,100

Distribución de los resultados experimentales del rendimiento de la fracción colorante de la semilla de aguacate, en función del coadyuvante utilizado

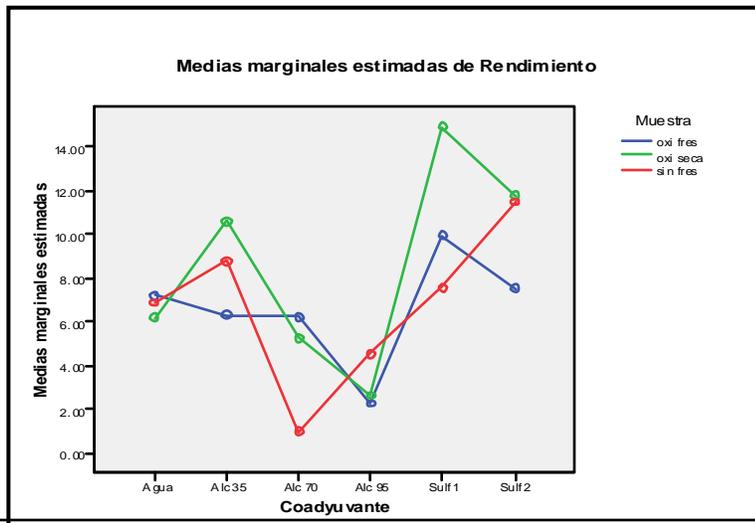


Continuación del apéndice C.

Medias marginales estimadas del rendimiento de la fracción colorante de la semilla de aguacate en función del estado de la semilla utilizado

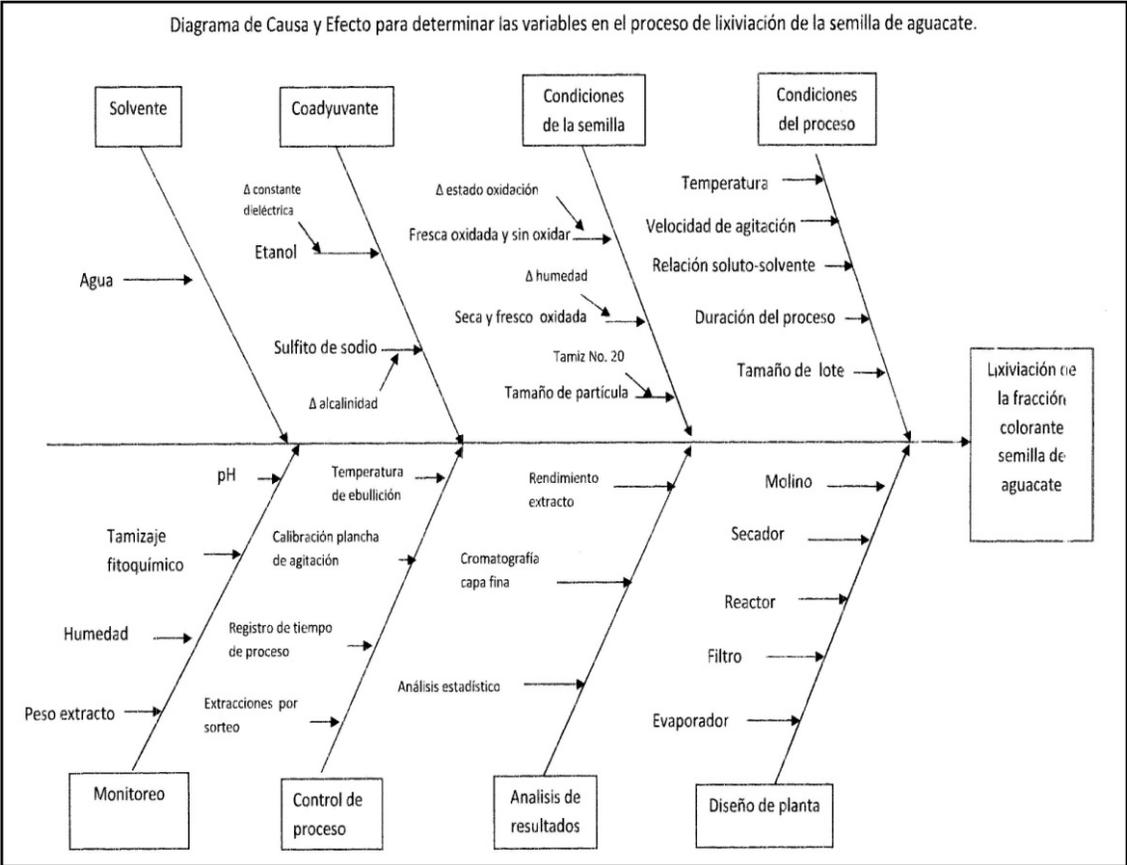


Medias marginales estimadas del rendimiento de la fracción colorante de la semilla de aguacate en función del coadyuvante utilizado



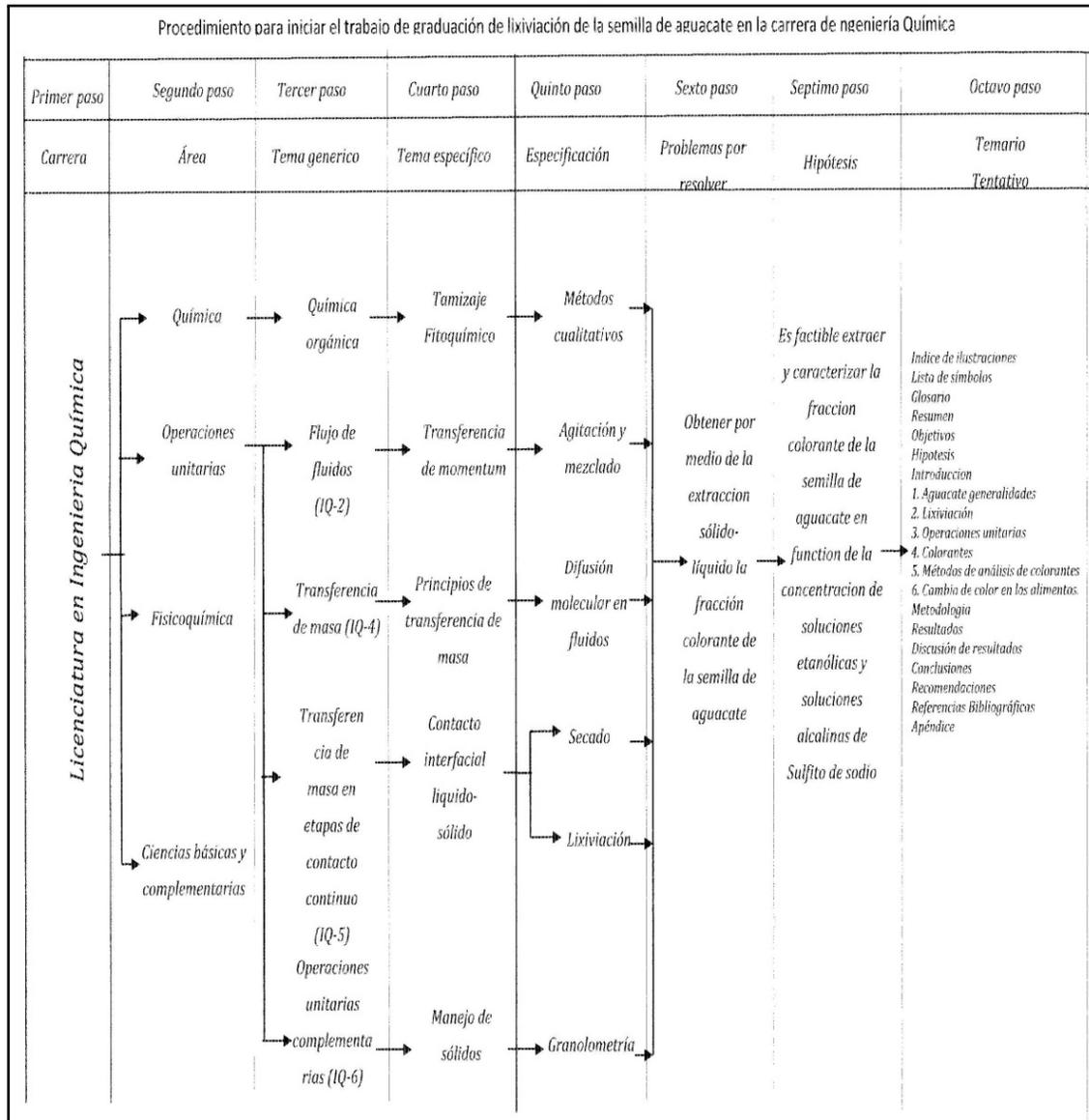
Fuente: elaboración propia.

Apéndice D. Metodología experimental



Fuente: elaboración propia.

Apéndice E. Procedimiento



Fuente: elaboración propia.

Apéndice F. Semilla de aguacate

Semilla de aguacate (Persea americana Miller). Rallador plástico



Semilla de aguacate rallada

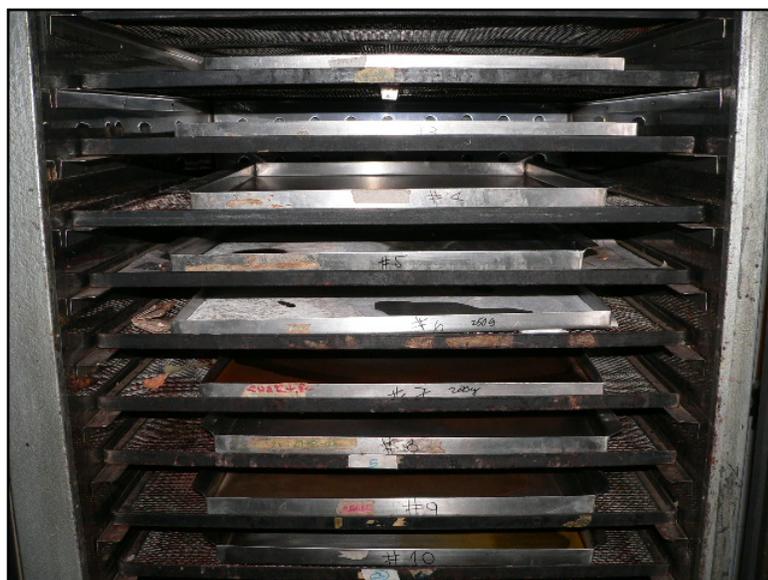


Continuación del apéndice F.

Oxidación de la semilla de aguacate expuesta al aire durante 5 minutos



Semilla de aguacate dentro del secador transversal de bandejas



Continuación del apéndice F.

Molino utilizado para la reducción del tamaño de la partícula de la semilla de aguacate



Cribado semilla de aguacate

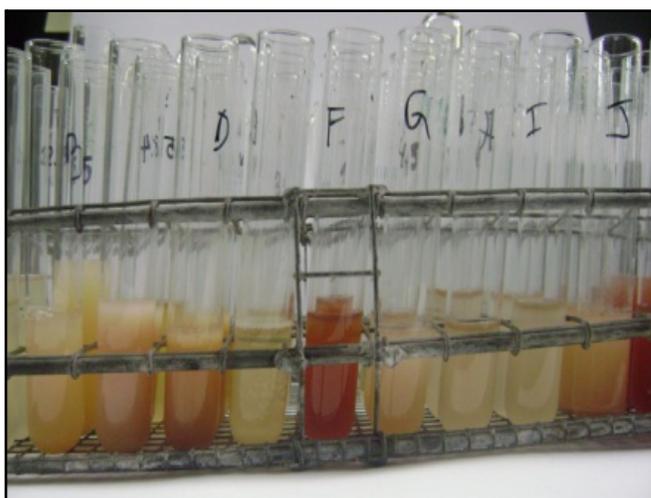


Continuación del apéndice F.

Lixiviación por maceración dinámica con reflujo de la semilla de aguacate

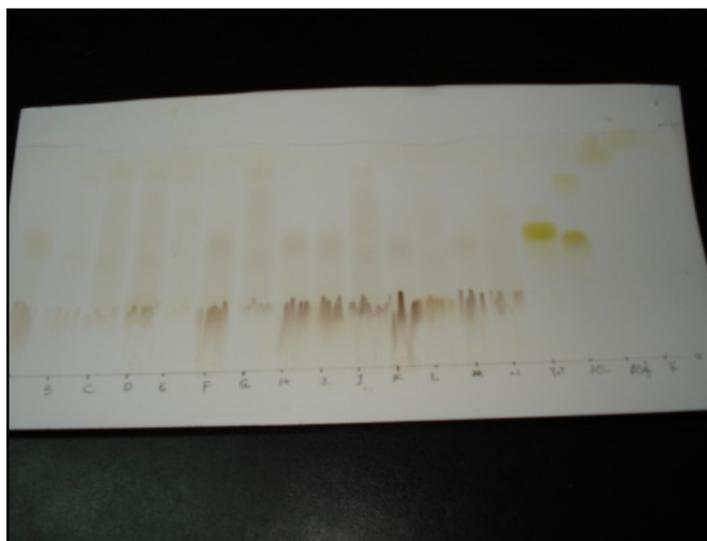


Prueba precitométrica de identificación de taninos, en extracto colorante (al centro). Utilizando gelatina (derecha) y gelatina sal 1% (izquierda)



Continuación del apéndice F.

Cromatografía de capa fina realizada a los extractos colorantes de la semilla de aguacate



Fuente: elaboración propia con la colaboración del laboratorio de investigación de productos naturales, LIPRONAT, de la facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala.