

**EVALUACIÓN DE UN PROCESO PARA LA OBTENCIÓN DE FITOESTEROLES
PARTIENDO DE LA SEMILLA DEL AGUACATE (*Persea americana* Mill. Var
Hass) A ESCALA LABORATORIO**

**ANGELA TATIANA MARTÍNEZ HERNÁNDEZ
ANDREA CAROLINA SANTANA PARRA**

**FUNDACIÓN UNIVERSIDAD DE AMÉRICA
FACULTAD DE INGENIERÍAS
PROGRAMA DE INGENIERÍA QUÍMICA
BOGOTÁ
2019**

**EVALUACIÓN DE UN PROCESO PARA LA OBTENCIÓN DE FITOESTEROLES
PARTIENDO DE LA SEMILLA DEL AGUACATE (*Persea americana* Mill. Var
Hass) A ESCALA LABORATORIO**

**ANGELA TATIANA MARTÍNEZ HERNÁNDEZ
ANDREA CAROLINA SANTANA PARRA**

Proyecto de grado para recibir el título de
INGENIERO QUÍMICO

**Director
IVÁN RAMÍREZ MARÍN
Ingeniero Químico**

**FUNDACIÓN UNIVERSIDAD DE AMÉRICA
FACULTAD DE INGENIERÍAS
PROGRAMA DE INGENIERÍA QUÍMICA
BOGOTÁ
2019**

Nota de aceptación (Dirección de investigaciones)

Ing. Juan Camilo Cely Garzón

Ing. Luis Miguel Chaparro Hernández

Bogotá, D.C., Septiembre 2019

DIRECTIVAS DE LA UNIVERSIDAD

Presidente Institucional y Rector del Claustro

Dr. MARIO POSADA GARCÍA-PEÑA

Vicerrector de Desarrollo y Recursos Humanos

Dr. LUIS JAIME POSADA GARCÍA-PEÑA

Vicerrectora Académica y de Posgrados

Dra. ANA JOSEFA HERRERA VARGAS

Decano Facultad de Ingenierías

Ing. JULIO CESAR FUENTES ARISMENDI

Director General de Investigación y Proyección Social

Dr. MANUEL CANCELADO JIMÉNEZ

Director Programa de Ingeniería Química

Ing. LEONARDO DE JESÚS HERRERA GUTIÉRREZ

Las directivas de la Universidad de América, los jurados calificadores y el cuerpo docente no son responsables por los criterios e ideas expuestas en el presente documento. Estos corresponden únicamente a los autores.

DEDICATORIA

A Dios, por darme la fuerza y la sabiduría para enfrentar cada desafío y permitirme culminar esta etapa de mi vida y de mi formación profesional.

A mi madre, Diana Parra, por su paciencia en los días difíciles.

A mi padre, José Santana, por cada uno de sus esfuerzos y darme la oportunidad de recibir una formación profesional.

A mi tío, Juan Jiménez, por su ayuda y apoyo en cada paso de mi vida y formación académica.

A mi abuelita, Elena Jiménez, por motivarme cada día para ser mejor, por haberme inculcado valores, enseñarme a luchar por mis propósitos, estar siempre pendiente de mí, por darme su cariño y cuidado. Gracias, por ser una persona incondicional y por todo el esfuerzo por darme siempre lo mejor.

A mi hermano, Matías Jiménez, por alegrar mis días con su dulzura y cariño.

Andrea Carolina Santana Parra

A Dios, por darle sentido a cada tropiezo y avance, por ser mi faro y mi torre.

A mis padres, Ángela Hernández y Rocky Martínez, por ser mi respaldo; por su sacrificio y esfuerzo para darme una formación profesional y una educación de valores, por preocuparse por mí y brindarme su ayuda incondicional. Ustedes son mi ejemplo, estoy agradecida por lo que ustedes han hecho de mí.

A mis hermanos Natalia Martínez y Juan Pablo Martínez, por acompañarme durante todo este proceso.

Andrea Santana fue la primera en creer en este proyecto, agradezco su paciencia, y su trabajo, con su empeño me dejó la barrera siempre alta para hacer todo lo mejor posible.

A mis docentes, compañeros y tutores, quienes brindaron su ayuda, motivación, compartieron su alegría y su conocimiento durante la realización de este proyecto.

Ángela Tatiana Martínez Hernández

AGRADECIMIENTOS

A la línea de biotecnología y nanotecnología del Tecnoparque nodo Bogotá, por darnos la oportunidad de desarrollar nuestro trabajo de investigación, apoyar y proporcionar materiales, equipos y asesoramiento técnico.

A nuestra gestora en la red de Tecnoparque Ana María Ortiz, por acompañarnos durante todo este proceso, brindarnos un espacio agradable de trabajo y por su asesoría técnica de forma permanente.

A nuestro director de proyecto de grado, Iván Ramírez por su tiempo, ayuda y colaboración en el desarrollo de este proyecto. Al ingeniero José Salazar por su orientación, buena actitud y disposición frente a las inquietudes presentadas a lo largo del trabajo.

A la ingeniera Yenny Hernández, por su comprensión y ayuda en la realización de las pruebas experimentales.

Finalmente, a todas aquellas personas que contribuyeron con su buena energía.

CONTENIDO

	pág.
INTRODUCCIÓN	23
OBJETIVOS	25
1. MARCO TEÓRICO	26
1.1 GENERALIDADES DEL AGUACATE	26
1.1.1 Taxonomía del aguacate	27
1.1.2 Fisiología del aguacate	28
1.1.3 Subespecies del aguacate	29
1.1.4 Variedades de aguacate	31
1.1.5 Valor nutritivo del aguacate	32
1.1.6 Aguacate variedad Hass	33
1.1.7 Madurez del aguacate	34
1.1.8 Situación actual del aguacate en Colombia	35
1.1.9 Residuos Agroindustriales	36
1.2 PROPIEDADES DE LOS SÓLIDOS	38
1.2.1 Tamaño de partícula	39
1.2.2 Área superficial	40
1.2.3 Factor de forma	41
1.2.4 Esfericidad	41
1.2.5 Angulo de reposo	41
1.2.6 Densidad de partícula	42
1.2.7 Índice de compresibilidad	44
1.2.8 Humedad	44
1.3 METODOS DE EXTRACCIÓN DE ACEITE	45
1.3.1 Extracción asistida por microondas (MAE)	45
Extracción por ultrasonido	48
1.3.2 Extracción por soxhlet	49
1.4 CARACTERIZACIÓN DE ACEITES VEGETALES	51
1.4.1 Densidad	51
1.4.2 Índice de refracción	51
1.4.3 Índice de saponificación	51
1.4.4 Índice de yodo	52
1.4.5 Índice de peróxidos	52
1.4.6 Índice de acidez	53
1.4.7 Materia insaponificable	53
1.5 FITOESTEROLES	53
1.5.1 β - Sitoesterol	55
1.5.2 Campesterol	56
1.5.3 Ergosterol	57
1.5.4 Estigmasterol	58
1.5.5 Solubilidad de los fitoesteroles	59

1.5.6 Fuentes de obtención de los fitoesteroles	59
1.5.7 Beneficios de los fitoesteroles	59
1.5.8 Mercado	60
1.6 PRUEBA LIEBERMANN-BURCHARD	61
1.7 TECNICAS CROMATOGRÁFICAS	62
1.7.1 Extracción en Fase Sólida (SPE)	62
1.7.2 Cromatografía de Gases (CG)	64
2. METODOLOGÍA	70
2.1 SELECCIÓN DE PARÁMETROS – TÉCNICAS DE EXTRACCIÓN	70
2.1.1 Parámetros para la hidrodestilación asistida por microondas (MAHD)	71
2.1.2 Parámetros para la extracción asistida por ultrasonido	82
2.1.3 Parámetros para la extracción soxhlet	92
2.1.4 Selección de solvente para la extracción de aceite	98
2.2 EXTRACCIÓN DE ACEITE	101
2.2.1 Obtención de Materia Prima	101
2.2.2 Pretratamiento de la materia prima	101
2.2.3 Caracterización semillas de aguacate	102
2.2.4 Secado de materia prima	108
2.2.5 Molienda	109
2.2.6 Tamizado	109
2.2.7 Determinación de humedad y materia volátil	110
2.2.8 Extracción por hidrodestilación asistida por microondas	111
2.2.9 Extracción por ultrasonido	112
2.2.10 Extracción por Soxhlet	113
2.2.11 Rendimiento	114
2.2.12 Caracterización del aceite de aguacate	114
2.3 PRUEBA DE LIEBERMANN-BURCHARD	120
2.4 SELECCIÓN DE PARÁMETROS – SEPARACIÓN DE FITOESTEROLES	120
3. RESULTADOS Y ANÁLISIS	139
3.1 SELECCIÓN DE PARÁMETROS	139
3.1.1 Selección de parámetros para la hidrodestilación asistida por microondas	140
3.1.2 Selección de parámetros para ultrasonido	141
3.1.3 Parámetros para Soxhlet	143
3.2 EXTRACCIÓN DE ACEITE	144
3.2.1 Pretratamiento de la materia prima	144
3.2.2 Caracterización semillas de aguacate	149
3.2.3 Extracción por hidrodestilación asistida con microondas	155
3.2.4 Extracción por ultrasonido	157
3.2.5 Extracción por soxhlet	160
3.2.6 Rendimiento	162
3.2.7 Caracterización del aceite	164
3.3 SEPARACIÓN Y DETERMINACIÓN DE FITOESTEROLES	169

4. CONCLUSIONES	173
5. RECOMENDACIONES	174
BIBLIOGRAFÍA	176
ANEXOS	199

LISTA DE TABLAS

	pág.
Tabla 1. Clasificación taxonómica del aguacate.	28
Tabla 2. Características de 15 variedades de aguacate en Colombia.	32
Tabla 3. Área, producción y rendimiento del aguacate Hass en Colombia.	35
Tabla 4. Principales productos comerciales con fitoesteroles en el mercado de los alimentos funcionales.	61
Tabla 5. Propiedades relevantes del n-Hexano, D-Limoneno y Etanol.	99
Tabla 6. Masa de la porción para ensayo.	116
Tabla 7. Masas para las porciones de ensayo y concentraciones de álcali.	118
Tabla 8. Selección de parámetros para la hidrodestilación asistida con microondas.	140
Tabla 9. Selección de parámetros para ultrasonido.	141
Tabla 10. Selección de parámetros para el método Soxhlet.	143
Tabla 11. Resultados de la caracterización de semillas de aguacate variedad Hass.	149
Tabla 12. Escala de fluidez.	152
Tabla 13. Propiedades de flujo y correspondiente ángulo de reposo.	154
Tabla 14. Características fisicoquímicas de los aceites vegetales crudos.	164
Tabla 15. Tiempos de retención y área de cada uno de los estándares de fitoesteroles.	171
Tabla 16. Resultados de la cuantificación de fitoesteroles.	172

LISTA DE IMÁGENES

	pág.
Imagen 1. Descripción de las diferentes partes del fruto de aguacate.	29
Imagen 2. Aguacate variedad Hass.	34
Imagen 3. Total de pérdidas y desperdicios de alimentos en Colombia.	37
Imagen 4. Constituyentes del aguacate Hass.	38
Imagen 5. Algunas configuraciones básicas utilizadas para la extracción asistida por microondas: (A) recipiente abierto, (B) recipiente cerrado, (C) destilación asistida por microondas y (D) hidrogravedad por microondas. (1) Horno de microondas, (2) enfriador, (3) frasco de recepción.	47
Imagen 6. Radiación en (A) Modo simple y en (B) Multimodo. (1) Magnetron, (2) Guía de onda, (3) Aplicador.	47
Imagen 7. Esquema del equipo de baño ultrasónico.	49
Imagen 8. Esquema del equipo de extracción soxhlet y rotavaporador.	50
Imagen 9. Principales grupos de esteroides vegetales.	54
Imagen 10. Estructura de los fitoesteroides, fitoestanoles y del colesterol.	55
Imagen 11. Molécula de β -sitosterol.	56
Imagen 12. Molécula de Campesterol	57
Imagen 13. Molécula de Ergosterol.	58
Imagen 14. Molécula de Stigmasterol.	58
Imagen 15. Reacción de Liebermann-Burchard.	62
Imagen 16. Esquema de los cartuchos utilizados en la extracción en fase sólida.	64
Imagen 17. Esquema de un Cromatógrafo de Gases.	65
Imagen 18. Esquema de un Espectrómetro de Masas.	67
Imagen 19. Reacción de la derivatización de un esteroide.	69
Imagen 21. Semillas de aguacate después del pretratamiento.	102
Imagen 22. Semillas utilizadas en la determinación de las propiedades de los sólidos.	103
Imagen 23. a) Semillas antes del proceso de secado; b) Horno de calentamiento.	109
Imagen 24. a) Molino de martillos; b) Tamiz.	109
Imagen 25. Agitador de tamiz; b) Torre de tamices.	110
Imagen 26. a) Mufla; b) Desecador.	111
Imagen 27. Equipo de hidrodestilación asistida por microondas.	112
Imagen 28. a) y b) Equipo de ultrasonido.	113
Imagen 29. Equipo Soxhlet.	113
Imagen 30. a) y b) Semillas después del proceso de secado.	145
Imagen 31. Semilla molida.	146
Imagen 32. Distribución de la semilla por No. de Tamiz. a) No. 12, b) No. 14, c) No. 16, d) No. 20, e) No. 30, f) No. 40, g) No. 50, h) No. 70, i) No. 80 y j) No. 100.	147
Imagen 33. a) Antes y b) Después de la determinación de humedad y materia volátil de las semillas recién despuladas.	148
Imagen 34. Ángulo de reposo dinámico.	155
Imagen 35. a) Producto de la extracción por hidrodestilación; Aceite extraído	

con las potencias de irradiación implementadas. b) 630 W y c) 735 W.	156
Imagen 36. Extracto obtenido por ultrasonido a una temperatura de 60 °C. a) Ensayo 1; b) Ensayo 2; c) Ensayo 3.	158
Imagen 37. Extracto obtenido por ultrasonido a una temperatura de 50 °C. a) Ensayo 1; b) Ensayo 2 y c) Ensayo 3.	159
Imagen 38. Extracto obtenido por ultrasonido a una temperatura de 70°C. a) Ensayo 1; b) Ensayo 2 y c) Ensayo 3.	159
Imagen 39. Extracto etanólico con Malla No. 30.	160
Imagen 40. a) Rotavaporador; b) Aceite extraído por Soxhlet.	160
Imagen 41. Aceite de semilla de aguacate (<i>Persea americana</i> Mill. var Hass). a) Aceite; b) Resina y c) Recipiente de almacenamiento.	161
Imagen 42. Tamaño de partícula. a) Malla No. 12 y b) Malla No. 30.	163
Imagen 43. a; b y c. Materia insaponificable del aceite de semillas de aguacate (<i>Persea americana</i> Mill. var Hass).	168
Imagen 44. Cromatograma del análisis composicional por CG-MS de la fracción de fitoesteroles presentes en el aceite de semillas de aguacate <i>Persea americana</i> Mill. var Hass.	171

LISTA DE CUADROS

	pág.
Cuadro 1. Características de las Subespecies de aguacate.	30
Cuadro 2. Composición nutricional de 100 g de fruta de aguacate.	33
Cuadro 3. Condiciones de operación para el tratamiento térmico asistido por microondas realizadas en el fruto de aguacate.	71
Cuadro 4. Condiciones de operación para la extracción de aceite de semillas oleaginosas usando tratamiento térmico asistido con microondas.	74
Cuadro 5. Condiciones de operación para la extracción de aceite utilizando hidrodestilación asistida por microondas.	78
Cuadro 6. Listado de artículos sobre extracciones utilizando ultrasonido en fruto y semilla de aguacate pertenecientes al género Persea.	83
Cuadro 7. Listado de artículos sobre extracciones utilizando ultrasonido en diversas especies oleaginosas.	87
Cuadro 8. Condiciones de operación para la extracción de aceite de semillas de aguacate mediante extracción soxhlet.	92
Cuadro 9. Condiciones de operación para la extracción de aceite mediante extracción soxhlet.	94
Cuadro 11. Condiciones de operación para la separación y determinación de fitoesteroles.	121
Cuadro 12. Condiciones de operación para la determinación y cuantificación de fitoesteroles, utilizando como detector espectrometría de masas (MS).	123
Cuadro 13. Condiciones de operación para la determinación y cuantificación de fitoesteroles, utilizando como detector ionización de llama (FID).	131
Cuadro 14. Pruebas químicas preliminares.	168
Cuadro 15. Criterios cromatográficos utilizados para la selección de parámetros.	170
Cuadro 16. Parámetros utilizados para la separación y cuantificación de fitoesteroles por GC-MS.	170

LISTA DE ECUACIONES

	pág.
Ecuación 1. Diámetro medio aritmético.	103
Ecuación 2. Diámetro medio geométrico.	104
Ecuación 3. Área superficial.	104
Ecuación 4. Esfericidad.	105
Ecuación 5. Densidad.	105
Ecuación 6. Factor de forma.	106
Ecuación 7. Densidad aparente aireada.	106
Ecuación 8. Densidad aparente empacada.	107
Ecuación 9. Índice de compresibilidad.	108
Ecuación 10. Contenido de humedad y materia volátil.	110
Ecuación 11. Rendimiento de aceite.	114
Ecuación 12. Densidad relativa.	114
Ecuación 13. Índice de saponificación.	115
Ecuación 14. Índice de Yodo.	116
Ecuación 15. Índice de Peróxido.	117
Ecuación 16. Índice de Acidez.	118
Ecuación 17. Determinación de Materia insaponificable.	119

LISTA DE ANEXOS

	pág.
Anexo A. Materia prima recolectada	200
Anexo B. Caracterización física de las semillas de aguacate Persea americana Mill. Variedad Hass	201
Anexo C. Distribución de la muestra según el tamaño de partícula en el proceso de tamizado	204
Anexo D. Protocolo para la extracción asistida por microondas	205
Anexo E. Protocolo para la extracción asistida por ultrasonido	208
Anexo F. Porcentaje de rendimiento de aceite mediante la extracción soxhlet	211
Anexo G. Caracterización fisicoquímica del aceite extraído de la semilla de aguacate	213
Anexo H. Cromatograma de los estándares de los fitoesteroles	215
Anexo I. Espectro de masas de compuestos identificados y comparación con la librería del equipo	216
Anexo J. Curva de calibración de fitoesteroles	219

ABREVIATURAS

AEDA: Análisis de dilución de extracto de aroma
ASG: Glucósidos de esterilo acilados
CHD: Enfermedad coronaria
CTP: Contenido total de polifenoles
Da: Diámetro aritmético (mm)
Dg: Diámetro geométrico (mm)
a: Eje de mayor longitud (mm)
b: Eje de longitud media (mm)
c: Eje de menor longitud (mm)
B: $(bc)^{0,5}$ (cm)
EtOH: Etanol
FDA: Administración de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos
FS: Esteroles libres
FT- IR: Espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier
GAE/g: mg de equivalentes de ácido gálico
GC: Cromatografía de gases
GC-FID: Cromatografía de gases con detector de ionización de llama
GC-MS: Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas
HCL: Ácido clorhídrico
HD: Hidrodestilación convencional
HPLC-DAD: Cromatografía líquida de alta eficiencia con detector de diodos
HPLC-MS: Cromatografía líquida con análisis de espectrometría de masas
IE: Impacto electrónico
KOH: Hidróxido de Potasio
MAD: Destilación asistida por microondas
MAE: Extracción asistida con microondas
MAHD: Hidrodestilación asistida por microondas
MAP: Procesos asistidos por microondas
MSDE: Destilación y extracción simultáneas asistidas por microondas
MW: Tratamiento con microondas
M:S: Relación muestra: solvente
MSP: Muestras sin pretratamiento
MTBE: Metil tert - butil éter
NSI: índice de solubilidad de nitrógeno
N₂: Nitrógeno
OE: Aceite esencial
PME: Pectina metilesterasa
PL: Lípidos polares
POPs: Productos de oxidación de fitosterol
PPO: Polifenol oxidasa
PUFA: Ácidos grasos poliinsaturados
PS: Fitoesteroles
PTFE: Politetrafluoroetileno

SDS-PAGE: Análisis de electroforesis en gel de dodecil sulfato de sodio y poliacrilamida
 SE: Esteres de ácidos grasos
 SEM: Microscopía electrónica de barrido
 SFA: Ácidos grasos saturados
 SFE: Extracción con fluidos supercríticos
 SG: Glucósidos de esterilo
 SPE: Extracción en fase sólida
 TG: Termogravimetría
 UABE: Ultrasound-assisted batch extraction
 UACE: Ultrasound-assisted continuous extraction
 UEA: Extracción asistida por ultrasonido
 b.s: Base seca
 b.h: Base húmeda
 scCO₂: Dióxido de carbono supercrítico
 S: Área superficial
 ϕ : Esfericidad
 ρ : Densidad en masa (g/mL)
 $\rho_{APA_{air}}$: Densidad aparente aireada g/mL
 $\rho_{APA_{emp}}$: Densidad aparente empacada (g/mL)
 λ : Factor de forma
 λ_a : Factor de forma determinado con diámetro aritmético
 λ_g : Factor de forma determinado con diámetro geométrico
 V_p : Volumen de partícula (cm³)
 D_p : Diámetro de partícula (cm)
 ρ_θ : Densidad del aceite
 ND: Índice de refracción
 I_s : Índice de saponificación (mg KOH/g)
 VI: Índice de yodo
 VP: Índice de peróxido
 I_a : Índice de acidez
 m: Masa de la muestra de ensayo (g)
 g: Gramos
 mg: Mili gramos
 Kg: Kilo gramos
 kHz: Kilo Hertz
 MHz: Mega Hertz
 mEq: Miliequivalentes
 mL: Mililitros
 L: Litros
 mm: Milímetro
 cm: Centímetro
 Rpm: Revoluciones por minuto
 W: Watios

GLOSARIO

AIRE INTERSTICIAL: se refiere a los espacios de aire que se generan dentro del material cuando éste se almacena o se apila. Este aire circundante entre los granos y semillas, posee una determinada temperatura y humedad relativa que afectan el almacenamiento de materiales sólidos¹.

COMPUESTOS BIOACTIVOS: corresponden a aquellas sustancias o componentes presentes en alimentos de origen vegetal, que influyen en los mecanismos fisiológicos y la actividad celular del organismo humano. Los compuestos bioactivos se caracterizan por tener efectos benéficos sobre la salud².

CONSTANTE DIELECTRICA: es la capacidad de un material para almacenar energía de microondas³.

FACTOR DE PÉRDIDA DIELECTRICA: es la capacidad de un material para disipar la energía de microondas en calor⁴.

ELECTROFORESIS: es un método utilizado en la separación de moléculas de acuerdo a su movilidad en un campo eléctrico. Dependiendo de la técnica que se use la separación se realiza en función de la carga eléctrica y de los tamaños moleculares⁵.

ELUCIÓN: este término implica el transporte de un componente a lo largo de la columna cromatográfica, por adición continua de un eluyente también denominado fase móvil; sucesivas adiciones de este último, permiten que el analito descienda a través de la columna mediante transferencias entre la fase estacionaria y la fase móvil⁶.

¹ PRODUCCIÓ AGRÀRIA ECOLÒGICA. El almacenaje de grano en producción agraria ecológica. En: PAE [sitio web]. España: Generalidad de Cataluña. [Consultado: 24 agosto 2019]. Archivo pdf. Disponible en: http://pae.gencat.cat/web/.content/al_alimentacio/al01_pae/05_publicacions_material_referencia/arxiu/fichapa_e23_almacenajegrano_pae.pdf

² MARTÍNEZ, Cristina y CARBAJAL, Ángeles. Componentes bioactivos de los alimentos. En: Kelloggs [sitio web]. Europa: Manual práctico de nutrición y salud – Kelloggs. [Consultado: 24 agosto 2019]. Archivo pdf. Disponible en: https://www.kelloggs.es/content/dam/europe/kelloggs_es/images/nutrition/PDF/Manual_Nutricion_Kelloggs_Capitulo_02.2.pdf

³ SUMNU, Gülüm y SAHIN, Serpil. Recent Developments in Microwave Heating [en línea]. En: SUN, Da-Wen. Emerging Technologies for Food Processing. Ankara (Turquía): Elsevier, 2005. p. 420. [Consultado: 09 febrero 2019]. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/B978-012676757-5/50018-9>

⁴ SUMNU. Op. cit., p. 420.

⁵ MORALES, Illán. Electroforesis. En: Departamento de programas audiovisuales. [sitio web]. México: Universidad Nacional Autónoma de México. [Consultado: 27 agosto 2019]. Archivo pdf. Disponible en: http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/Exposicion_electroforesis_5087.pdf

⁶ UNIVERSIDAD DE JAEN. Tema 6: Técnicas Cromatográficas. En: UJA [sitio web]. España: Universidad de Jaen [Consultado: 26 de Agosto de 2019]. Archivo pdf. Disponible en: http://www4.ujaen.es/~mjayora/docencia_archivos/Quimica%20analitica%20ambiental/Tema6.pdf

FLUIDEZ: representa la calidad del movimiento de los sólidos o granos; su determinación resulta útil en el diseño de conductos por gravedad ya que influye en la velocidad a la que puede llegar el material y, por consiguiente, la fuerza de impacto o choque. La fluidez está relacionada con otras propiedades como el ángulo de reposo⁷.

MATRIZ ALIMENTARIA: puede definirse como el conjunto de constituyentes específicos de alimentos, capaces de interactuar entre ellos y proporcionar comportamientos o funcionalidades que difieren a los exhibidos por los componentes en un estado aislado o libre; el término matriz es usualmente utilizado como sinónimo de alimento o para denotar su composición⁸.

RAZA: es un conjunto de poblaciones fenotípicamente similares de una especie que habitan una subdivisión geográfica⁹.

TIEMPO DE RETENCIÓN: en cromatografía líquida y gaseosa, se refiere al tiempo transcurrido entre el momento en el que se introduce la muestra en la columna cromatográfica, y el instante en el que el analito de interés alcanza la señal máxima en el detector¹⁰. El tiempo de retención también se puede definir como el periodo que tarda un compuesto en dejar el sistema cromatográfico¹¹.

⁷ IXTAINA, Vanesa. Caracterización de la semilla y el aceite de chía (*Salvia hispánica* L.) obtenido mediante distintos procesos, aplicación en tecnología de alimentos. Trabajo de Tesis doctoral. Universidad Nacional de La Plata, 2010. p. 23. [Consultado: 02 junio 2019]. Disponible en: <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/2679>

⁸ AGUILERA, José. The food matrix: implications in processing, nutrition and health [en línea]. En: Journal Critical Reviews in Food Science and Nutrition. Septiembre, 2018, p. 1-2. [Consultado: 25 agosto 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30040431>

⁹ ECURED. Raza [en línea]. [Consultado: 26 agosto 2019]. Disponible en: <https://www.ecured.cu/Raza>

¹⁰ UNIVERSIDAD DE JAEN. Op. cit., p. 4

¹¹ UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA. Separaciones por cromatografía. En: ULPGC [sitio web]. España: Universidad de las Palmas de Gran Canaria. [Consultado: 26 agosto 2019]. Archivo pdf. Disponible en: https://www2.ulpgc.es/hege/almacen/download/39/39360/separaciones_por_cromatografia_1.pdf

RESUMEN

Con el fin de realizar la extracción de fitoesteroles a partir de las semillas de aguacate (*Persea americana Mill. Var Hass*), se realizó en primera instancia una búsqueda bibliográfica respecto a las condiciones de operación para la extracción de aceite de la semilla mencionada utilizando tres metodologías: extracción soxhlet, extracción asistida con ultrasonido y extracción asistida con microondas, éste pre-experimento se realizó teniendo en cuenta que la estabilidad del aceite, el valor nutritivo del mismo y por consiguiente el perfil de fitoesteroles, depende no solo de los factores ambientales y genéticos del cultivo del fruto sino también del proceso extractivo utilizado; la revisión en la literatura permitió establecer las condiciones adecuadas para las metodologías mencionadas utilizando un solvente amigable con el medio ambiente, como lo es el etanol. Sin embargo, según la selección de parámetros realizada, los ensayos para las metodologías de ultrasonido y microondas fueron poco reproducibles con cantidades casi nulas de aceite, por lo que la técnica seleccionada correspondió a soxhlet, con la cual se obtuvo un rendimiento de aceite del 10,623% a partir de 25 g de semilla molida, empleando una proporción muestra: solvente equivalente a 1:10, una temperatura de 70°C, un tiempo de extracción de 6 horas y un tamaño de partícula de 0,59436 mm (malla No. 30).

Adicionalmente, se realizó un experimento con el fin de evaluar el efecto del tamaño de partícula en el rendimiento de extracción, encontrando un máximo de 14,55% cuando se utiliza un tamaño de partícula equivalente a 0,4191 mm (malla No. 40), el rendimiento se redujo en un 6,32% cuando se utilizó un tamaño de 0,1499 mm (malla No. 100), se estima que estos resultados pueden deberse a las aglomeraciones formadas en el material particulado debido a la cohesión que presentan las partículas cuando poseen tamaños muy pequeños.

El aceite obtenido mediante soxhlet, se sometió a análisis fisicoquímico, de manera que pudiera asegurarse y estudiarse la identidad de ésta sustancia oleosa, los valores obtenidos corresponden a: 0,9152 g/mL para la densidad; 1,4661 para el índice de refracción; 152,4456 mg KOH/g para el índice de saponificación; 94,3905 cg I/g para el índice de yodo; 17,3771 mEq/kg para el índice de peróxidos; 4,2797 mg KOH/g para el índice de acidez y 86,8665 g/kg para la materia insaponificable. Los resultados permitieron confirmar la identidad y pureza del aceite obtenido a partir de la semilla de aguacate variedad Hass, así como la sensibilidad de la sustancia oleosa a sufrir reacciones de oxidación debido a que contiene varias insaturaciones en su estructura.

Finalmente, se cuantificaron la cantidad de fitoesteroles obtenidos a partir de la concentración de la materia insaponificable obtenida del aceite de semilla de aguacate, alcanzando resultados de 158.87 mg/kg de aceite para el β -sitosterol y 7.3 mg/kg de aceite para el Estigmasterol; las condiciones a las cuales se realizó la separación y cuantificación de esteroides, fueron comparadas con la búsqueda

bibliográfica realizada para la determinación de estos compuestos bioactivos. Teniendo en cuenta los valores mencionados, el rendimiento del proceso para la separación de fitoesteroles partiendo de la semilla del aguacate es de 0.5777 mg de β -sitosterol/g aceite y 0.0265 mg de Estigmasterol/g de aceite.

Palabras clave: *Extracción, aceite, soxhlet, microondas, ultrasonido, fitoesteroles, materia insaponificable.*

INTRODUCCIÓN

El aguacate es una de las frutas más importantes que se cultiva en Colombia según FAOSTAT 2017, el fruto de aguacate obtuvo una producción de 403,184 toneladas procedente de las distintas variedades cultivadas, ubicándose como cuarto país productor y tercero en relación al área cosechada. Así mismo, el país registra una participación del 6% del área mundial con 34,114 hectáreas, siendo el departamento del Tolima el principal productor con 66,471 toneladas seguido de los departamentos de Caldas, Antioquia, Santander, Bolívar, Quindío, Cesar, Valle del Cauca y Risaralda que representan en conjunto el 86% del total de área sembrada del país¹².

Entre las diferentes variedades que existen de este fruto, el aguacate Hass se cultiva comúnmente debido a su considerable vida útil y demanda en los mercados extranjeros, siendo también la variedad con mayor contenido de aceite. No obstante, es importante entender que solo se consume la pulpa del fruto; la semilla del aguacate que representa aproximadamente el 13% del peso de la fruta, se considera un residuo agrícola que contiene compuestos valiosos como ácidos grasos, polifenoles, esteroides y antioxidantes, los cuales podrían ganar relevancia en las industrias de alimentos, cosmética, farmacéutica y de biocombustibles. Estudios revelaron que las semillas de aguacate Hass se pueden usar como biopolímero natural, así mismo, hay varios informes disponibles que confirman la presencia de compuestos lipídicos. Por otra parte, también se reportan estudios sobre la utilización de semillas de aguacate carbonizado como un adsorbente y que podrían utilizarse para eliminar el fenol de las aguas residuales¹³.

En Colombia, aproximadamente el 62% (6,1 millones de toneladas al año) de los residuos que se pierde y se desperdicia pertenecen a frutas y verduras¹⁴ que, si no se descartan adecuadamente, suponen un serio problema en cuanto a su disposición final y pueden promover la contaminación a fuentes hídricas, molestias por malos olores, propagación de roedores y otras plagas. Adicionalmente, la utilización completa de las frutas podría llevar a la agroindustria a producir menos residuos, aumentando la rentabilidad industrial, por lo tanto, explotar el contenido fitoquímico de estos residuos puede promover la generación de nuevos productos con un valor agregado tales como alimentos fortificados, ingredientes alimentarios;

¹² GRANADOS, William y VALENCIA, Jenny. Cadena de aguacate (Indicadores e instrumentos). Agosto 2018. En: La República. [sitio web]. Colombia. [Consultado: 04 febrero 2019]. Archivo PDF. Disponible en: <https://imgcdn.larepublica.co/cms/2018/09/26180443/Aguacate.pdf?w=auto>

¹³ AVHAD, M. R. y MARCHETTI, J. M. Temperature and pretreatment effects on the drying of Hass avocado seeds [en línea]. En: Biomass and Bioenergy. Diciembre, 2015, vol. 83, p. 467-473. ISSN: 0961-9534. [Consultado: 04 febrero 2019]. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2015.10.028>

¹⁴ CONGRESO INTERNACIONAL AmITC 2017. En: (6-8, septiembre, 2017: Popayán, Colombia). Estado actual de los desperdicios de frutas y verduras en Colombia. Popayán: Universidad Tecnológica de Pereira, 2017. p. 194-208. [Consultado: 04 febrero 2019]. Archivo pdf. Disponible en: revistas.utp.ac.pa/index.php/memoutp/article/download/1493/2174

colorantes, emulsificantes, saborizantes entre otros; la generación de éstos productos a partir de la utilización de residuos agroindustriales, puede aportar a la solución de problemas ambientales que es uno de los mayores retos que enfrenta hoy el mundo¹⁵.

Por esto, la recuperación de compuestos bioactivos de diversos materiales de desperdicio ha sido el foco principal de muchos estudios científicos. En comparación con otras frutas, el aguacate contiene una gran cantidad de esteroides que se extraen junto con otros componentes insaponificables del aceite como los tocoferoles, luteína y vitaminas. La concentración de esteroides en el aceite de aguacate es de alrededor de 3.3 mg / g de aceite, con hasta 4.5 mg / g de aceite en algunos casos (siendo el principal compuesto β -sitosterol), contenidos significativamente mayores que los del aceite de oliva. Los esteroides vegetales o fitoesteroides, son compuestos triterpenos, similares en estructura al colesterol que se encuentran principalmente en aceites vegetales, semillas oleaginosas, cereales, legumbres y frutos secos que tienen beneficios saludables, como la disminución del colesterol LDL (*Lipoproteína de baja densidad*); además, poseen propiedades anticancerígenas, antiinflamatorias, bactericidas y fungicidas. Algunos estudios han demostrado que los fitoesteroides pueden tener un efecto protector en los aceites calentados a temperaturas de fritura¹⁶.

Considerando que actualmente existen pocos estudios elaborados con subproductos de aguacate y que el informe de artículos existentes, trabaja con solventes no permitidos por las autoridades farmacéuticas y de alimentos como el metanol o el hexano¹⁷, se decide realizar una investigación basada en un solvente verde utilizando tres tecnologías de extracción, esto representa una alternativa de aprovechamiento para los residuos generados por las industrias de aguacate, que fomenta la posibilidad de extraer biomoléculas funcionales como los fitoesteroides que conforme a la información de Grand View Research, inc., el mercado mundial de fitoesteroides crecerá a una tasa anual prevista de 7,2% entre 2014 y 2020¹⁸ debido a su aplicación en nutracéuticos y alimentos funcionales; es por esto que a partir de residuos agroindustriales, específicamente la semilla del aguacate variedad Hass, se establece este proyecto como un punto de partida para nuevas investigaciones relacionadas con el uso de residuos como materias primas aplicables al entorno colombiano mediante el desarrollo de procesos biotecnológicos.

¹⁵ MELGAR, Bruno, *et al.* Bioactive characterization of Persea americana Mill. by-products: A rich source of inherent antioxidants [en línea]. *En*: Industrial Crops & Products. Enero, 2018, vol. 111, p. 212-218. [Consultado: 04 febrero 2019]. ISSN. 0926-6690. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.10.024>

¹⁶ BERASATEGI, Izaskun; BARRIUSO, Blanca y ANSORENA, Diana. Stability of avocado oil during heating: Comparative study to olive oil [en línea]. *En*: Food Chemistry. Mayo, 2012, vol. 132, no. 1, p. 439-446. [Consultado: 04 febrero 2019]. ISSN. 0308-8146. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.11.018>

¹⁷ MELGAR. Op. cit., p. 212-218.

¹⁸ GRAND VIEW RESEARCH, INC. Phytosterols market to grow at 7.2% CAGR from 2014 to 2020. [en línea]. [Consultado: 04 febrero 2019]. Disponible en: <https://www.grandviewresearch.com/press-release/global-phytosterols-market>

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Evaluar un proceso para la obtención de Fitoesteroles partiendo de la semilla del aguacate (*Persea americana* Mill. Var Hass) a nivel de laboratorio.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Seleccionar los parámetros y las condiciones de operación para la extracción del aceite de la semilla del aguacate (*Persea americana* Mill. Var Hass).
- Extraer el aceite de la semilla del aguacate (*Persea americana* Mill. Var Hass).
- Seleccionar los parámetros y las condiciones de operación para la separación de los fitoesteroles partiendo del aceite de aguacate (*Persea americana* Mill. Var Hass).
- Establecer el rendimiento de la separación de los fitoesteroles partiendo del aceite de aguacate (*Persea americana* Mill. Var Hass).

1. MARCO TEÓRICO

Debido a que el actual proyecto, se fundamenta en la extracción de compuestos bioactivos (fitoesteroles) a partir de la semilla del aguacate, es necesario profundizar en la fuente que proporciona este residuo agroindustrial, de manera tal que pueda conocerse de forma integral el fruto y otras actividades como su producción. El estudio del cultivo de aguacate permite estimar la cantidad de pérdidas o desperdicios que pueden producirse durante las etapas que involucran el manejo de la fruta, datos que reflejan el uso potencia de estos desechos y en consecuencia, la importancia de tratarlos generando nuevos productos que posean un valor agregado.

1.1 GENERALIDADES DEL AGUACATE

El aguacate (*Persea americana* Mill.) es un árbol frutal originario de Guatemala, México y parte de Centro América, pero actualmente se cultiva en todo el mundo¹⁹. Antiguos asentamientos humanos en el valle de Tehuacán sugieren que el aguacate podría haber sido utilizado desde 7000 – 8000 a.C. y posiblemente domesticado al menos 5000 a.C. por grupos mesoamericanos²⁰. El nombre se deriva de la palabra azteca náhuatl, ahuacatl, que significa "testículo", una referencia a la forma de la fruta, considerada para los aztecas como la fruta de la fertilidad²¹.

El ciclo de vida del aguacate es largo, un árbol de 1 a 4 años se considera joven, de 8 años en adelante se considera adulto y completamente productivo, un periodo que puede extenderse por más de 20 o 25 años. Tiene un crecimiento y desarrollo variable, alcanzando alturas de 15 a 30 m. Además, es un árbol productivo que entrega fruta durante todo el año. Los dos periodos de cosecha se clasifican como máximo y mínimo²².

En la actualidad la demanda de aguacate está creciendo rápidamente debido a su valor nutricional, lo que ha permitido un aumento en su consumo²³. Los principales

¹⁹ RESTREPO, Ana, et al. Comparación del aceite de aguacate variedad Hass cultivado en Colombia, obtenido por fluidos supercríticos y métodos convencionales: una perspectiva desde la calidad [en línea]. En: Revista Lasallista de investigación. Noviembre, 2012, vol. 9, no. 2, p. 152. [Consultado: 13 septiembre 2018]. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rlsi/v9n2/v9n2a16.pdf>

²⁰ AYALA, Tomas y LEDESMA, Noris. Avocado History, Biodiversity and Production [en línea]. En: NANDWANI, Dilip. Sustainable Horticultural Systems. Alemania: Springer, 2014, p.157. [Consultado: 18 abril 2019]. Disponible en: https://doi.org/10.1007/978-3-319-06904-3_8. ISBN 978-3-319-06904-3.

²¹ HURTADO, Elena; FERNÁNDEZ, Alberto y CARRASCO, Alegría. Avocado fruit – *Persea americana*. [en línea]. En: RODRIGUES, Sueli, DE OLIVEIRA SILVA, Ebenezer y SOUSA DE BRITO, Edy. Exotic Fruits Reference Guide. Londres: Academic Press, 2018. p. 37. [Consultado: 13 abril 2019]. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803138-4.00001-0>. ISBN: 978-0-12-803138-4.

²² DORANTES, Lidia; PARADA, Lidia y ORTIZ, Alicia. AVOCADO: Post-harvest operations. En: FAO. [sitio web]. Roma (Italia). [Consultado: 17 abril 2019]. Archivo pdf. Disponible en: http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/inpho/docs/Post_Harvest_Compendium_-_Avocado.pdf.

²³ ESTRADA, Eliana; CORTÉS, Misael y CORREA, Guillermo. Stability of a colloidal system based on avocado (*Persea americana* Mill. cv. Hass) and others: Effect of process and composition. [en línea]. En: Acta

productos derivados del aguacate que se comercializan son el aceite, compuesto mayoritariamente por ácidos grasos monoinsaturados y rico en vitaminas A, B, C y E²⁴, empleado como base para productos de untar, principalmente guacamole, bebidas refrescantes, así como numerosos usos en la industria cosmética²⁵.

1.1.1 Taxonomía del aguacate. El árbol de aguacate es una planta dicotiledónea de la orden Ranales y la familia *Lauraceae*, que está formada por 50 géneros y cerca de 3,000 especies²⁶. Correspondiente al género *Persea* dividido a su vez en tres subgéneros diferentes que incluyen más de 150 especies: *Eriodaphne* (alrededor de 70 especies, como *P. caerulea*, *P. indica* y *P. lingue*, entre otras), *Machilus* (incluidas alrededor de 80 especies, como *P. japonica*, *P. kobu*) y *Persea*²⁷ al que se le reconocen tres especies, *P. schiedeana* Nees, *P. parvifolia* Williams y *P. americana* Mill²⁸. Está última desarrollo razas ecológicas o subespecies (explicadas detalladamente en la sección 1.1.3), debido al aislamiento geográfico, que no son lo suficientemente diferentes como para ser consideradas especies separadas, debido a que tienen un genoma muy similar, lo que permite que la hibridación entre ellas ocurra fácilmente y sus híbridos dispongan de diferentes tipos de adaptación a las condiciones climáticas con características agronómicas mejoradas²⁹.

La mayoría de las especies dentro del género *Persea* son nativas de América, las cuales están dispersas desde el suroeste de los Estados Unidos hasta Chile. Sin embargo, desde su hábitat natural, se ha extendido por todo el mundo a casi todas las regiones tropicales y subtropicales del mundo particularmente en Asia, islas Canarias, Madeira y Azores³⁰.

Agronómica. Julio-Septiembre, 2017, vol. 66, no. 3, p. 339. [Consultado: 09 septiembre 2018]. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/acag/v66n3/0120-2812-acag-66-03-00338.pdf>.

²⁴ BUELVAS, G; PATIÑO, J. y CANO, J. Evaluación del proceso de extracción de aceite de aguacate Hass (*Persea americana* Mill) utilizando tratamiento enzimático [en línea]. En: Revista Lasallista de investigación. Noviembre, 2012, vol. 9, no. 2, p. 138. [Consultado: 13 septiembre 2018]. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rlsi/v9n2/v9n2a15.pdf>.

²⁵ BARBOSA, Enrique, et al. Chemical and technological properties of avocado (*Persea americana* Mill.) seed fibrous residues [en línea]. En: Food and Bioproducts Processing. Septiembre, 2016, vol. 100, p. 457-458. [Consultado: 30 enero 2019]. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2016.09.006>.

²⁶ ASHWORTH, Vanessa; CHEN, Haofeng y CLEGG, Michael. *Persea* [en línea]. En: KOLE, Chittaranjan. Wild Crop Relatives: Genomic and Breeding Resources. Tropical and subtropical fruits. Alemania: Springer, 2011. p. 173. [Consultado: 13 abril 2019]. ISBN 978-3-642-20446-3. DOI 10.1007/978-3-642-20447-0.

²⁷ HURTADO. Op. cit., p. 37.

²⁸ AYALA. Op. cit., p. 165.

²⁹ ASHWORTH. Op. cit., p. 173-176.

³⁰ AYALA. Op. cit., p. 165.

Tabla 1. Clasificación taxonómica del aguacate.

Reino	Vegetal
División	Spermatophyta
Subdivisión	Angiospermae
Clase	Dicotyledoneae
Subclase	Dipétala
Orden	Ranales
Familia	<i>Laureaceae</i>
Género	<i>Persea</i>
Especie	<i>Persea americana</i> Miller
Variedad	Hass

Fuente: POLANIA, Wilson. Actividad antioxidante de los residuos del aguacate Hass (*Persea americana* Mill. var Hass) sometidos a extracciones clásicas y a fluidos presurizados [en línea]. Trabajo de grado. Magister en Ciencias Química. Universidad Nacional de Colombia, 2014. p. 6. [Consultado: 13 septiembre 2018]. Disponible en: <http://www.bdigital.unal.edu.co/49408/1/Tesis%20Maestria%20Wilson%20Polania.pdf>

1.1.2 Fisiología del aguacate. El fruto es una baya, que consiste en una sola semilla de tamaño mediano, rodeada por una pulpa (mesocarpio) mantecosa de color amarillo pálido, con pigmentación verde cerca de la corteza y endocarpio delgado. La piel (exocarpio) es variable en grosor y textura. El color del fruto dependiendo la madurez puede ser verde, amarillo-verde, negro, púrpura o rojizo. La forma del fruto suele ser piriforme, ovalada y redonda, puede pesar 2.3 kg, donde el contenido de aceite varía de 7.8 a 40% sobre una base de peso fresco. La semilla es redonda, cónica u ovoide, de 5-6.4 cm de largo, de color marfil, pero encerrada en dos capas marrones, delgadas y similares al papel. Las características de la fruta son muy variables, dependiendo de la raza y la variedad³¹.

³¹ AYALA. Op. cit., p. 178.

Imagen 1. Descripción de las diferentes partes del fruto de aguacate.



Fuente: elaboración propia, con base en HURTADO, Elena; FERNÁNDEZ, Alberto y CARRASCO, Alegría. Avocado fruit – *Persea americana*. [en línea]. En: RODRIGUES, Sueli, DE OLIVEIRA SILVA, Ebenezer y SOUSA DE BRITO, Edy. Exotic Fruits Reference Guide. Londres: ACADEMIC PRESS, 2018. p. 37. [Consultado: 13 abril 2019]. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803138-4.00001-0>. ISBN: 978-0-12-803138-4.

1.1.3 Subespecies del aguacate. Un conjunto de características morfológicas y ecológicas distinguen cada una de las tres variedades botánicas (también conocidas como razas ecológicas o subespecies), que se han domesticado en diferentes partes de Mesoamérica. Dentro de la especie *Persea americana* es posible diferenciar tres de ellas, estas son la mexicana, guatemalteca y antillana. Las cuales tienen características típicas en términos de hojas, frutos, período de floración, etc., que se resumen en el Cuadro 1. Además, por lo general, los cultivos que crecen en climas tropicales no son los mismos que en las áreas subtropicales ya que presentan características muy diferentes entre ellas, como el tamaño, la forma y el color.

Cuadro 1. Características de las Subespecies de aguacate.

Características		Subespecie			
		Mexicana	Guatemalteca	Antillana	
Adaptación (clima)		Frío	Frío moderado a medio	Cálido	
T mínima (°C)		-9	-4,5 a 6	-2,2 a 4,0	
T rango (°C)		8 a 15	12 a 22	22 a 28	
Tolerancia	Frío	Alta	Media	Baja	
	Humedad	Baja	Media	Alta	
	Salinidad	Baja	Media	Alta	
	Alcalinidad	Media	Baja	Alta	
Origen		Tierras altas de México	Tierras altas de México y Guatemala	Tierras bajas de América Central y Suramérica	
Hojas	Olor a anís	Si	No	No	
	Color de los brotes	Verde pálido	Bronceado	Verde pálido	
	Tamaño	Pequeña	Intermedia	Grande	
	Color (verde)	Oscuro lustroso	Oscuro lustroso	Claro opaco	
Frutos	Tamaño	Pequeño	Variable	Variable	
	Peso (g)	200 a 250	200 a 2.300	400 a 2.300	
	Contenido de aceite	Más alto	Bajo	Alto	
	Cáscara	Grosor	Delgada	Gruesa	Mediana
		Tamaño (mm)	0,8	3,0 a 6,0	1,5 a 3,0
		Textura	Lisa	Áspera	Lisa
Consistencia		Suave	Leñosa, quebradiza	Flexible	
Semilla	Tamaño	Grande	Pequeña	Grande	
	Estado	Adherida o suelta	Adherida	Suelta	
	Cotiledones	Rugoso	Liso	Rugoso	
Pedúnculo	Tamaño	Largo	Corto	Corto	
	Longitud (cm)	2,0 a 5,4	0,6 a 1,8	-	
	Diámetro (cm)	0,6 a 1,27	1,27 a 1,8	-	
	Forma	Cónico	Cilíndrico o cónico	Cilíndrico	
Floración a maduración		5-7 meses	10-18 meses	6-8 meses	

Fuente: DANE. [sitio web]. El cultivo del aguacate (*Persea americana* Miller.), fruta de extraordinarias propiedades alimenticias, curativas e industriales (Primera parte). [Consultado: 21 de abril de 2019]. Disponible en: https://www.dane.gov.co/files/investigaciones/agropecuaria/sipsa/Bol_Insumos_oct_2015.pdf

- **Subespecie mexicana:** La raza mexicana, *P. americana* var. *Drymifolia*, se cree que es la raza primordial del aguacate comercial y aunque no hay variedades mexicanas puras cultivadas comercialmente, hay dos características importantes que se transmitieron a los híbridos. Estos son la adición de una mayor resistencia al frío (-9°C) y que maduran a finales del otoño y principios del invierno³². Entre las tres razas, es la que mayor contenido de aceite presenta, llegando a un 33%, este porcentaje equivale al valor más alto si se compara con otros tipos³³. Es importante aclarar que, de esta raza, se obtiene una mejor producción; sin embargo, es la menos tolerante a la salinidad del suelo. El árbol generalmente crece vigorosamente adaptándose a alturas desde los 1.700 hasta los 2500 metros sobre el nivel del mar (m.s.n.m.)³⁴.
- **Subespecie guatemalteca:** Se desarrolló en la región montañosa de Guatemala, nativa de las tierras altas de América Central donde pertenece la *P. nubigena* var. *Guatemalensis*. Una característica de esta raza, es que el tiempo de madurez del fruto es mucho más largo, como las variedades Nabal y Reed que pueden tardar 15 meses o más desde la floración hasta la madurez³⁵. Además, el árbol se adapta a alturas entre 1000 a 2000 msnm. y se distingue fácilmente del tipo mexicano por la ausencia de anís en las hojas, son menos tolerables al frío que la raza mexicana y los frutos de este tipo tienen una piel gruesa que a menudo es leñosa y quebradiza³⁶.
- **Subespecie antillana:** Se cultiva en las tierras bajas y húmedas de Guatemala a través de Costa Rica y el norte de América del Sur (Perú, Ecuador y Colombia), donde la variedad *P. americana* var. *americana* predomina adaptándose a alturas por debajo de los 1000 msnm. Dentro de las características de esta raza, se destaca su sensibilidad al frío y su considerable tolerancia a la salinidad del suelo; las hojas del fruto no tienen olor a anís, el tamaño del mismo no varía y sus semillas son relativamente grandes, algunas veces sueltas en la cavidad. Los frutos de esta subespecie, tienen un contenido relativamente bajo de aceite³⁷.

1.1.4 Variedades de aguacate. En la Tabla 2 se muestran las características más destacadas de las 15 variedades de aguacate comercialmente establecidas en Colombia.

³² AYALA. Op. cit., p. 161-162

³³ TAMAYO, Álvaro, *et al.* Tecnología para el cultivo de aguacate [en línea]. Colombia: Corpoica, 2008. Razas de aguacate, p. 24. [Consultado: 20 abril 2019]. Disponible en: <https://conectarural.org/sitio/sites/default/files/documentos/tecnologicacultivoaguacate.pdf>. ISBN. 978-958-8311-74-6

³⁴ DANE. [sitio web]. El cultivo del aguacate (*Persea americana* Miller.), fruta de extraordinarias propiedades alimenticias, curativas e industriales (Primera parte). [Consultado: 21 abril 2019]. Disponible en: https://www.dane.gov.co/files/investigaciones/agropecuaria/sipsa/Bol_Insumos_oct_2015.pdf

³⁵ AYALA. Op. cit., p. 163

³⁶ TAMAYO. Op. cit., p. 27.

³⁷ *Ibid.*, p. 32-33.

Tabla 2. Características de 15 variedades de aguacate en Colombia.

Variedad	Altura (msnm)	Peso del fruto (g)	Corteza %	Pulpa %	Semilla %	Forma fruto	Grasa %
Booth 7	0-1200	300-570	10.6	70.5	18.5	Redonda	10.5
Booth 8	0-1800	360-800	12.0	72.5	15.5	Ovoide	9.0
Choquette	0-1500	680-1130	3.0	80.0	17.0	Ovalada	13.0
Collinred	0-1600	500-600	8.0	79.0	13.0	Periforme	5.0
Collinson	0-1200	470-600	5.5	83.0	11.5	Ovoide-Elíptica	13.0
Fuerte	1200-1800	250-450	11.0	74.0	15.0	Periforme	5.0
Hass	1200-2000	170-400	8.5	72.0	11.5	Oval-periforme	17.8
Lorena	400-1400	430-750	2.9	87.2	9.9	Oblonga	8.2
Lula	0-1500	400-680	9.5	70.0	20.5	Periforme	7.0
Monroe	800-1600	680-1360	7.7	78.0	14.3	Ovalada	12.0
Ruehle	0-1200	280-570	6.1	81.7	12.2	Periforme	11.7
Santana	0-1400	350-500	8.0	2.0	20.0	Periforme	8.0
Trapica	0-1400	340-680	9.0	71.0	20.0	Cónica	7.0
Trinidad	0-1500	440-560	9.5	76.1	14.4	Ovoide	15.0
Waldín	0-1200	400-800	8.8	72.3	18.9	Ovalada	10.0

Fuente: AMÓRTEGUI, Ignacio; CAPERA, Edgar y GODOY, José. El Cultivo de Aguacate. Módulo Educativo para el Desarrollo Tecnológico de la Comunidad Rural. En: PROHACIENDO. [sitio web]. Tolima. [Consultado: 20 abril 2019]. Archivo pdf. Disponible en: <http://bibliotecadigital.agronet.gov.co/bitstream/11348/4911/1/EI%20cultivo%20del%20aguacate.pdf>

1.1.5 Valor nutritivo del aguacate. Esta fruta es muy apreciada por sus propiedades organolépticas, nutricionales y medicinales, además de ser una excelente fuente de energía, ácidos grasos y vitaminas, considerada un alimento funcional debido a los efectos beneficiosos probados para la salud humana³⁸. En el cuadro 2 se muestra la composición nutricional de 100 g de fruta de aguacate según el USDA³⁹ (Departamento de Agricultura de los Estados Unidos) y el FNIC (Centro de Información de Alimentos y Nutrición).

En general, el contenido de aceite del aguacate aumenta con el proceso de maduración, siendo los ácidos grasos monoinsaturados los predominantes donde el ácido oleico es uno de los más característicos. Otros ácidos grasos importantes de la fruta del aguacate, aunque menos abundantes, son el ácido linoleico y palmítico. Al prestar atención al resto de los componentes, el nivel de proteína de aguacate es más alto que las concentraciones de proteína de otras frutas, alcanzando valores de alrededor del 2%, mientras que la mayoría de las frutas presentan un contenido de proteína de alrededor del 1%. El aguacate también es

³⁸ AMÓRTEGUI, Ignacio; CAPERA, Edgar y GODOY, José. El Cultivo de Aguacate. Módulo Educativo para el Desarrollo Tecnológico de la Comunidad Rural. En: Prohaciendo. [sitio web]. Tolima. [Consultado: 20 abril 2019]. Archivo pdf. Disponible en: <http://bibliotecadigital.agronet.gov.co/bitstream/11348/4911/1/EI%20cultivo%20del%20aguacate.pdf>

una fuente muy importante de vitaminas E y C, pigmentos (antocianinas, clorofilas y carotenoides), esteroides, compuestos fenólicos, y azúcares de siete carbonos⁴⁰.

Cuadro 2. Composición nutricional de 100 g de fruta de aguacate.

Composición nutricional general	Energía	160 kcal
	Agua	73.23 g
	Proteínas	2.00 g
	Lípidos totales	14.66 g
	Carbohidratos	8.53 g
	Fibra dietética total	6.70 g
	Azúcar	0.66 g
Ácidos grasos	Ácido graso saturado	2.13 g
	Ácidos grasos monoinsaturados	9.80 g
	Ácidos grasos insaturados	1,82 g
Vitaminas	Vitamina C (ácido ascórbico)	10.00 mg
	Tiamina (B_1)	0.07 mg
	Riboflavina (B_2)	0.13 mg
	Niacina (B_3)	1.74 mg
	Piridoxina (B_6)	0,26 mg
	Folato	89 μ g
	Vitamina A	7 μ g
	Vitamina E (α – <i>tocoferol</i>)	2.07 mg
	Vitamina K (<i>filoquinona</i>)	21 μ g
Minerales	Calcio (Ca)	12 mg
	Hierro (Fe)	0.55 mg
	Magnesio (Mg)	29 mg
	Fósforo (P)	52 mg
	Potasio (K)	485 mg
	Sodio (Na)	7 mg
	Zinc (Zn)	0.6 mg

Fuente: elaboración propia, con base en HURTADO, Elena; FERNÁNDEZ, Alberto y CARRASCO, Alegría. Avocado fruit – *Persea americana*. [en línea]. En: RODRIGUES, Sueli, DE OLIVEIRA SILVA, Ebenezer y SOUSA DE BRITO, Edy. Exotic Fruits Reference Guide. Londres: Academic Press, 2018. p. 41. [Consultado: 13 abril 2019]. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803138-4.00001-0>. ISBN: 978-0-12-803138-4

1.1.6 Aguacate variedad Hass. Esta variedad fue patentada en 1935 por Rudolph G. Hass, en Habra Heights (California) está compuesta por 10 a 15% de la raza

⁴⁰ HURTADO. Op. cit., p. 40-41.

mexicana y 85 a 90% de la raza guatemalteca⁴¹. Representa más del 85% de todos los aguacates cultivados y vendidos en todo el mundo debido a la calidad de sus frutos, el alto rendimiento de producción y la capacidad de almacenamiento durante períodos relativamente largos⁴². El aguacate Hass es más ovalado que otras variedades, tiene una semilla pequeña que pesa aproximadamente entre 140–340 g, sus frutos tienen una forma ovoide a piriforme y son de tamaño mediano, de 8 a 10 centímetros de largo, con un peso que varía de 150 a 400 gramos, la cáscara es de mediana a gruesa, con una textura rugosa de color verde que se oscurece a medida que madura, y se vuelve púrpura a negro. La pulpa es de color amarillo cremoso con un contenido de grasa del 17% al 21% y un rico sabor a nuez. Esta variedad se adapta al clima frío moderado, entre 1,800 y 2,600 m.s.n.m.⁴³. También tiene varias deficiencias, entre las que se encuentran la sensibilidad a la baja humedad ambiental, el frío, la sequía y la salinidad⁴⁴.

Imagen 2. Aguacate variedad Hass.



Fuente: CHAPARRO, María. Aguacate (Persea americana Mill). En: CENICAFÉ. [sitio web]. Colombia. [Consultado: 24 febrero 2019]. Archivo pdf. Disponible en: <http://biblioteca.cenicafe.org/bitstream/10778/828/19/Aguacate.pdf>

1.1.7 Madurez del aguacate. Una de las características más notables de los aguacates, en comparación con otras frutas, es que no maduran en el árbol, el proceso de maduración ocurre después de la cosecha, y puede tomar desde unos pocos días hasta una semana (dependiendo de la variedad de aguacate, la temperatura de almacenamiento y el grado de madurez). Como se vio anteriormente, los aguacates se clasifican en tres razas ecológicas: mexicana, guatemalteca y antillana; Cada una exhibe una temporada de cosecha específica. En términos del tiempo de madurez (el tiempo entre la temporada de floración y la

⁴¹ TAMAYO. Op. cit., p. 29.

⁴² AYALA. Op. cit., p. 185.

⁴³ TAMAYO. Op. cit., p. 29.

⁴⁴ AYALA. Op. cit., p. 185.

cosecha), la raza guatemalteca requiere el período más largo (10 a 18 meses), seguida de la raza antillana (6 a 8 meses) y mexicanas (5 a 7 meses)⁴⁵.

1.1.8 Situación actual del aguacate en Colombia. En las últimas décadas, la demanda de esta fruta se ha incrementado considerablemente en varios mercados, lo que ha provocado un aumento significativo en el área sembrada (69 mil hectáreas) y en el volumen de aguacates destinados a la exportación. En el año 2017 alcanzaron 28 mil toneladas con un valor aproximado de USD 53 millones, destinados a países como Reino Unido, España y los Países Bajos, lo que puede explicarse considerando que reexportan un porcentaje significativo de sus importaciones de aguacate a otros países de la Unión Europea⁴⁶.

Se estima que en el país existe alrededor de 13.000 productores cuya principal actividad económica es el cultivo de aguacate. Donde es importante mencionar que el cultivo de la variedad Hass corresponde al 21% del total de área sembrada en país, en la cual en los últimos cuatro años ha crecido un 40% debido al dinamismo e interés por esta variedad, siendo los principales departamentos con mayor área sembrada y producción de aguacate Tolima (14 mil hectáreas y 66 mil toneladas), Caldas (12 mil hectáreas y 55 mil toneladas) y por último Antioquia (9 mil hectáreas y 90 toneladas). Logrando para el año 2017 un rendimiento promedio nacional de 9.1 Ton/ha (Tonelada/hectárea), siendo el departamento del Valle del Cauca el que presentó el mayor rendimiento con 13 Ton/ha, seguido de Caldas con 12 Ton/ha y Antioquia con 11 Ton/ha.⁴⁷

Tabla 3. Área, producción y rendimiento del aguacate Hass en Colombia.

Variable	2014	2015	2016	2017	2018
Área (Ha)	7.800	8.765	11.860	13.500	15.530
Producción (Ton)	28.500	52.000	65.000	77.000	95.250
Exportaciones (Ton)	1.408	4.434	14.561	26.208	35.000
Consumo Interno (Ton)	27.092	47.566	50.439	50.792	60.250

Fuente: GRANADOS, William y VALENCIA, Jenny. Cadena de aguacate (Indicadores e instrumentos). Agosto 2018. En: La República. [sitio web]. Colombia. [Consultado: 04 febrero de 2019]. Archivo pdf. Disponible en: <https://imgcdn.larepublica.co/cms/2018/09/26180443/Aguacate.pdf?w=auto>

Por otro lado, los principales productores mundiales son México (2 millones de toneladas), República Dominicana (643 mil toneladas), Perú (487 mil toneladas), Colombia (403 mil toneladas), e Indonesia (326 mil toneladas). Donde es evidente que el continente americano conquista la producción de aguacate, siendo también

⁴⁵ Ibid., p. 178.

⁴⁶ UGRA (Unidad de Gestión de Riesgos Agropecuarios). Ficha de inteligencia Aguacate. En: Finagro. [sitio web]. Colombia. [Consultado: 15 marzo 2019]. Archivo pdf. Disponible en: https://www.finagro.com.co/sites/default/files/node/basic-page/files/ficha_aguacate_version_ii.pdf

⁴⁷ Ibid., p. 3-5

el continente con la mayor cantidad de hectáreas cosechadas (ha), seguido de África, Asia, Europa y Oceanía⁴⁸.

Teniendo en cuenta esta información, se puede ver que el aguacate se posiciona como uno de los cultivos con mayor potencial de crecimiento nacional, ya que el país tiene la disponibilidad de zonas que favorece el desarrollo de sus cultivos, el interés de satisfacer la demanda de los mercados extranjeros aprovechando la tendencia mundial del consumo de este producto y siendo una oportunidad para la industrialización de esta fruta.

1.1.9 Residuos Agroindustriales. A medida que crece la población mundial, aumenta la demanda de alimentos, mientras que este crecimiento es notable, también lo es la generación de residuos sin ningún tratamiento o manejo técnico adecuado, lo que implica que es necesario reducir el impacto ambiental que ocasiona por dichos residuos porque esto puede generar problemas de salud, degradación del patrimonio natural y destrucción de ecosistemas esenciales, por lo que se hace necesario buscar nuevas fuentes de productos naturales, siendo este tema motivo de diversos estudios en los últimos años⁴⁹.

Actualmente, 28 millones de toneladas por año corresponden a la oferta disponible de alimentos en Colombia, sin embargo, no todos los alimentos destinados al consumo humano se utilizan adecuadamente; de la cifra mencionada, 9.76 millones de toneladas (equivalentes a aproximadamente el 34%) corresponden a desechos (es decir, por tres toneladas de producción, se pierde y se desperdicia una tonelada), de los cuales el 64% corresponde a pérdidas que se generan en la etapa de producción, poscosecha, almacenamiento y procesamiento industrial, mientras que el 36% equivalen a desperdicios generados en las etapas de distribución y consumo. Adicionalmente, de los 9.76 millones de toneladas anuales, 6.1 millones de toneladas equivalen a pérdidas y desperdicios de frutas y verduras, siendo esta la primera categoría que genera una alta carga de residuos agroindustriales, de acuerdo con la distribución de pérdidas y desperdicios realizada por el Departamento Nacional de Planeación⁵⁰.

⁴⁸ GRANADOS, Op. cit, p. 8.

⁴⁹ MEJÍAS, Nildia; OROZCO, Eber y GALÁAN, Néstor. Aprovechamiento de los residuos agroindustriales y su contribución al desarrollo sostenible de México [en línea]. En: Ciencias Ambientales y Recursos Naturales. Diciembre, 2016, vol. 2, no. 6. p. 27-28. [Consultado: 04 febrero 2019]. ISSN. 2444-4936. Disponible en: https://www.ecorfan.org/spain/researchjournals/Ciencias_Ambientales_y_Recursos_Naturales/vol2num6/Revisita_de_Ciencias_Ambientales_y_Recursos_Naturales_V2_N6_4.pdf

⁵⁰ DEPARTAMENTO NACIONAL DE PLANEACIÓN. Pérdida y desperdicio de alimentos en Colombia. En: DNP [sitio web]. Colombia: Departamento nacional de planeación. [Consultado: 26 de Agosto de 2019]. Archivo pdf. Disponible en: https://mrv.dnp.gov.co/Documentos%20de%20Interes/Perdida_y_Desperdicio_de_Alimentos_en_colombia.pdf

Imagen 3. Total de pérdidas y desperdicios de alimentos en Colombia.



Fuente: DEPARTAMENTO NACIONAL DE PLANEACION. Colombianos botan 9.76 millones de toneladas de comida al año [en línea]. [Consultado: 26 agosto 2019]. Disponible en: <https://www.dnp.gov.co/Paginas/Colombianos-botan-9,76-millones-de-toneladas-de-comida-al-a%C3%B1o.aspx>

Teniendo en cuenta lo anterior, una de las tendencias actuales es la recuperación y aprovechamiento de los residuos agroindustriales que pueden tener diversas aplicaciones, como en la biotecnología, donde mediante procesos de extracción directa o por medio de transformaciones químicas o microbianas se pueden producir productos de valor agregado como pigmentos, antibióticos, enzimas entre otros. Otra forma de aprovechar estos residuos es usarlos como materias primas para la generación de alternativas renovables como los bioenergéticos: biocombustibles y biolubricantes, dado que estos recursos son de fácil adquisición y bajo costo⁵¹.

Entre las diferentes variedades de fruta de aguacate, la variedad Hass se cultiva comúnmente debido a su mayor vida útil y demanda en mercados extranjeros. Sin embargo, es importante entender que solo la pulpa de la fruta se consume, la semilla de aguacate, que representa aproximadamente el 13% del peso fresco total de la fruta, se considera un residuo agrícola y se desecha sin más aplicaciones⁵². La proporción promedio de pulpa, cascara y semilla en la fruta Hass de aguacate se presenta en la Imagen 4.

Por otro lado, el sector agropecuario colombiano requiere integrarse al sector agroindustrial para aumentarle valor a sus productos y residuos⁵³. Ya que el

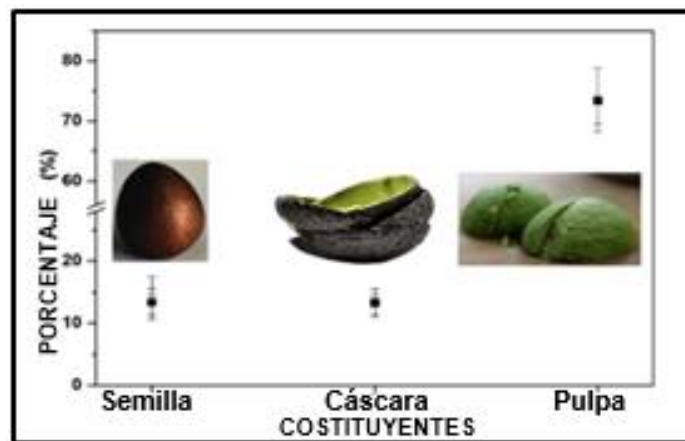
⁵¹ Ibid., p. 33.

⁵² AVHAD, Op. cit., p. 467-468

⁵³ CEBALLOS, Adela y MONTOYA, Sandra. Evaluación química de la fibra en semillas, pulpa y cáscara de tres variedades de aguacate [en línea]. En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial. Enero-Junio

desarrollo de agroindustrias competitivas especialmente en los países en desarrollo, es crucial para generar empleos e ingresos tanto para la población rural como para la urbana. Esto implica que es necesario contar con políticas y estrategias que promuevan el aprovechamiento de los residuos que se presentan desde la cosecha, pasando por los centros de concentración, distribución y finalizando en la industrialización, comercialización y consumo⁵⁴. Según la FAO, el 28% de los desperdicios ocurren a nivel del consumidor; el 28% de las pérdidas a nivel de producción, el 17% de los desperdicios ocurre en mercado y distribución y el 22% de las pérdidas se dan durante el manejo y almacenamiento y el 6% restante a nivel de procesamiento⁵⁵.

Imagen 4. Constituyentes del aguacate Hass.



Fuente: elaboración propia, con base en AVHAD, M. R. y MARCHETTI, J. M. Temperature and pretreatment effects on the drying of Hass avocado seeds [en línea]. *En: Biomass and Bioenergy*. Diciembre, 2015, vol. 83, p. 468. [Consultado: 04 febrero 2019]. ISSN: 0961-9534. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2015.10.028>

1.2 PROPIEDADES DE LOS SÓLIDOS

Debido a la diversidad de características que poseen los sólidos respecto a su forma (polvos finamente divididos, polvos angulares, anchas láminas continuas) y otras propiedades como dureza, abrasividad, fragilidad, flexibilidad; los materiales en fase

2013, vol. 11, no. 1, p. 103. [Consultado: 04 febrero 2019]. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/bsaa/v11n1/v11n1a13.pdf>

⁵⁴ MEJÍAS, Op. cit., p. 29-30.

⁵⁵ CONGRESO INTERNACIONAL AmITC 2017. Op. cit., p. 2.

sólida son más difíciles de manipular a diferencia de aquellos que se encuentren en estado líquido o gaseoso⁵⁶.

El estudio de las características físicas de sólidos como lo son semillas y granos es de gran relevancia en la ingeniería, pues a partir de esta actividad se obtiene información para la adecuación y operación de máquinas, montaje de sistemas de transporte, construcción de estructuras de almacenamiento, control de procesos, diseño de empaques y demás procesos que involucran este tipo de materia prima. Parámetros relacionados con la calidad, tales como textura, aspecto, estructura y estabilidad (actividad de agua), también se encuentran relacionadas con las características físicas los sólidos⁵⁷.

Añadido a lo anterior, las condiciones físicas de granos o semillas también influyen en el almacenamiento de este tipo de sólidos, pues su estudio permite el manejo adecuado de las condiciones para llevar a cabo esta operación de forma que pueda conservarse la materia prima por periodos prolongados de tiempo⁵⁸.

Dentro de las propiedades principales de las semillas, se encuentran: la forma, el tamaño, el área superficial, la densidad y la porosidad, estas características dependen del contenido de humedad del sólido⁵⁹. A continuación, se describen con más detalle:

1.2.1 Tamaño de partícula. Las partículas corresponden a sólidos tridimensionales, cuando éstas son equidimensionales, es decir se comportan como partículas perfectamente esféricas, la determinación de su tamaño se define como el diámetro de la esfera; sin embargo, en la práctica muchas partículas no poseen estas características, por lo que para la medición de su tamaño de partícula se debe estudiar más de una dimensión, lo que se convierte en una dificultad. Sin embargo, para superar esta barrera, generalmente se utilizan diámetros equivalentes que

⁵⁶ MCCABE, Warren L.; SMITH, Julian C. y HARRIOTT, Peter. Operaciones en las que intervienen partículas de sólidos [en línea]. En: Operaciones unitarias en ingeniería química. 4 ed. México: Editorial McGraw-Hill, 1994. p. 867. [Consultado: 22 mayo 2019]. Disponible en: <https://ingenieriapetroquimicaunefazulia.files.wordpress.com/2011/05/operaciones-unitarias-a.pdf>

⁵⁷ BERK, Zeki. Physical Properties of Food Materials [en línea]. En: Food Process Engineering and Technology. 2 ed. Israel: Editorial Academic Press - Elsevier, 2018. p. 1. [Consultado: 22 mayo 2019]. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812018-7.00001-4>

⁵⁸ HINTERMANN FELIX EDA HIX. Factores físicos que afectan al grano almacenando. En: Agriculture & Food Security Network. [sitio web]. Estados Unidos: Agriculture & Food Security Network [Consultado: 29 mayo 2019]. Archivo pdf. Disponible en: https://www.shareweb.ch/site/Agriculture-and-Food-Security/focusareas/Documents/phm_postcosecha_factores_fisicos.pdf

⁵⁹ OSPINA MACHADO, Julio Ernesto. Características físicas [en línea]. En: Características Físico Mecánicas y Análisis de Calidad de Granos. Bogotá D.C: Unidad de Publicaciones de la Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de Colombia, 2002. p. 59. [Consultado: 30 mayo 2019]. Disponible en: https://books.google.com.co/books/about/Caracter%C3%ADsticas_f%C3%ADsico_mec%C3%A1nicas_y_an.h_tml?id=2DWmqb6xP3wC&redir_esc=y

representan el diámetro de una partícula real (no esférica). En este último proceso, el tamaño medido depende del método utilizado para el dimensionamiento⁶⁰.

Existen otros métodos que permiten la determinación del tamaño de partícula, uno de ellos involucra la toma de las longitudes características del material, en este proceso, el sólido se gira en la mano y se miden los diámetros ortogonales con ayuda de un micrómetro o calibrador. Cuando éste último instrumento se pone en contacto con la partícula, puede que ésta se comprima ligeramente, por lo que la fuerza de compresión debe ser controlada y minimizada. Pese a que las mediciones en los sólidos involucran los términos diámetro mayor, intermedio y menor, en la industria del comercio normalmente se utilizan conceptos como longitud, ancho y grosor para describir el tamaño de granos y semillas⁶¹.

Los tamaños de partícula se miden en pulgadas (in) o milímetros (mm) para partículas gruesas, en función de la abertura del tamiz para partículas finas, y en micrómetros (μm) o nanómetros (nm) para partículas muy finas.

1.2.2 Área superficial. En un cuerpo sólido o líquido, el estado de las moléculas que se encuentran en su superficie difiere al de las moléculas que se encuentran en el interior del mismo. Mientras que, en el volumen de un sólido, las moléculas se encuentran ubicadas al azar y sometidas a una atracción equilibrada entre ellas; en la superficie, las moléculas son atraídas solo por un lado y se encuentran en ocasiones, dispuestas más ordenadamente⁶².

Hablar de esta propiedad, es referirse a la superficie del sólido o semilla por unidad de volumen de granos, que realizan intercambio energético y de humedad con el aire durante procesos de secado⁶³ o enfriamiento, por lo tanto, el conocimiento del área superficial permite el modelamiento de procesos que involucran transferencia de masa y energía (calor)⁶⁴.

La determinación de esta propiedad, puede realizarse teniendo en cuenta datos de distribución de tamaño, o puede medirse directamente mediante la adsorción de moléculas gaseosas en la superficie del material⁶⁵

⁶⁰ ENNIS, Bryan, *et al.* Solid-Solid Operations and Processing [en línea]. En: GREEN, D. y PERRY, R. Perry's Chemical Engineers' Handbook. 8 ed. Nueva York: Editorial McGraw-Hill, 2008. p. 8. [Consultado: 30 mayo 2019]. Disponible en: <https://thunderbooks.wordpress.com/2009/05/27/manual-del-ingeniero-qumico-perrys-ings/>

⁶¹ OKLAHOMA STATE UNIVERSITY. Chapter 2 – Physical Attributes: Shape, Volume, Density, Porosity and Particle size Distribution. En: Biosystems and Agricultural Engineering. [sitio web]. Estados Unidos: Oklahoma State University [Consultado: 02 Junio 2019]. Archivo pdf. Disponible en: https://bae.okstate.edu/faculty-sites/jcarol/Class_Notes/BAE2023_Spring2011/

⁶² BERK. Op. Cit., p. 23

⁶³ IXTAINA. Op. Cit., p. 270-280.

⁶⁴ OKLAHOMA STATE UNIVERSITY. Op. Cit., p. 11

⁶⁵ MONTES, Everaldo; TORRES, Ramiro y Andrade, Ricardo. Determinación de los factores de forma de área (α) y volumen (β), de cristales de α -lactosa utilizando Microscopía Óptica [en línea]. En: Temas agrarios. Julio –

1.2.3 Factor de forma. Existen diversos métodos para la cuantificación de la forma del grano, dentro de los cuales se incluyen: métodos visuales, métodos matemáticos que involucran mediciones físicas y análisis de imágenes tridimensionales⁶⁶.

La forma del material y sus dimensiones físicas, son fundamentales en la selección de materia prima y por lo tanto la separación de sólidos no deseados. Adicionalmente la forma y el tamaño, son propiedades que determinan la cantidad de semillas que pueden almacenarse o empaquetarse en contenedores de capacidad conocida⁶⁷.

Cuando materiales como frutas y verduras se trasladan hidráulicamente o, grabos y semillas se trasladan de forma neumática, las velocidades del fluido de transporte, están relacionados con propiedades de densidad y forma⁶⁸.

1.2.4 Esfericidad. La forma de un material, puede caracterizarse según la semejanza con un sólido geométrico (esferoide, esfera, elipsoide triaxial, entre otros)⁶⁹. Teniendo en cuenta lo mencionado, esta propiedad se refiere a la forma de la semilla cuando se compara con una esfera⁷⁰. La esfericidad junto a la redondez, corresponden a los índices de forma más usuales, donde los valores de la primera propiedad, varían entre 0 y 1, siendo 0 la asignación para aquellos sólidos determinados como no esféricos, y 1 el referente para aquel material designado como esfera perfecta⁷¹.

1.2.5 Angulo de reposo. El ángulo de reposo corresponde al ángulo que forma el material con la superficie horizontal cuando se apila, esta propiedad permite la caracterización del flujo de una muestra sólida⁷² y resulta útil en el diseño de máquinas transportadoras y tolvas⁷³.

Diciembre, 2008, vol. 13, no. 2, p. 19. [Consultado: 04 febrero 2019]. ISSN: 0122-7610. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=3021504>

⁶⁶ UTHUS, L.; HOFF, I. y HORVLI, I. Evaluation of grain shape characterization methods for unbound aggregates. En: CiteSeerX [sitio web]. Estados Unidos: Universidad Estatal de Pensilvania. [Consultado: 29 mayo 2019]. Archivo pdf. Disponible en: <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/summary?doi=10.1.1.133.9296&rank=1>

⁶⁷ OKLAHOMA STATE UNIVERSITY. Op. Cit., p. 11

⁶⁸ Ibid., p. 11

⁶⁹ Ibid., p. 12

⁷⁰ IXTAINA. Op. Cit.; p. 22

⁷¹ THE SCIENCE EDUCATION RESOURCE CENTER AT CARLETON COLLEGE. GEL 324 Sedimentology Particle Shape Analysis. En: SERC [sitio web]. Estados Unidos: Universidad Carleton. [Consultado: 04 febrero 2019]. Archivo pdf. Disponible en: https://serc.carleton.edu/files/NAGTWorkshops/sedimentary/activities/particle_shape.pdf

⁷² GANESANA V.; ROSENTRATERB, K. y MUTHUKUMARAPPANA K. Flowability and handling characteristics of bulk solids and powders – a review with implications for DDGS [en línea]. En: Biosystems Engineering. Diciembre, 2008, vol. 101, p. 428. [Consultado: 02 junio 2019]. ISBN: 1537-5110. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2008.09.008>

⁷³ KARIMI, M., *et al.* The Effect of Moisture Content on Physical Properties of Wheat [en línea]. En: Pakistan Journal of Nutrition. 2009, vol. 8, p. 90-95. [Consultado: 03 junio 2019]. ISBN: 1680-5194. Disponible en: <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.498.1190&rep=rep1&type=pdf>

El ángulo de reposo es menor cuando el material es redondeado y liso, mientras que para partículas angulares es mayor⁷⁴. Características como el tamaño y forma de la partícula, así como la cohesión presente en las mismas afectan esta propiedad⁷⁵.

Según OSPINA, J.⁷⁶ el ángulo de reposo puede clasificarse de dos formas:

- Angulo de reposo estático: Corresponde al ángulo formado por los sólidos cuando estos se deslizan sobre sí mismos⁷⁷. Un método comúnmente utilizado para la medición del ángulo de reposo estático, se basa en el cálculo de la tangente del ángulo, que relaciona la altura y el diámetro de la base formada por el material apilado, luego de verterlo a través de un embudo⁷⁸
- Angulo de reposo dinámico: Este ángulo de reposo tiene lugar cuando el material sólido está sometido a movimiento debido a la carga y descarga en bodegas, silos y demás maquinaria de almacenamiento, esto, le da un valor de importancia adicional si se compara con el ángulo de reposo estático⁷⁹.

IXTAINA, Vanesa⁸⁰, afirma que el ángulo de reposo se encuentra directamente relacionado con la fluidez del material.

1.2.6 Densidad de partícula. La densidad describe la relación entre el peso de la materia prima y su respectivo volumen⁸¹. En granos esta propiedad puede dividirse en:

- Densidad aparente: Esta propiedad gravimétrica se expresa como la relación entre la masa del sólido sin asentar, y el volumen ocupado por el mismo incluyendo los espacios vacíos o intersticiales⁸², donde estos últimos, corresponden a aquellas zonas existentes entre partículas o aglomerados que pueden ser ocupadas por aire. Características como la esfericidad, distribución de tamaño de las partículas y grado de aglomeración, determinan la cantidad de

⁷⁴ MCCABE. Op. Cit., p. 881

⁷⁵ NEIKOV, O.; NABOYCHENKO, S. y YEFIMOV, N. Handbook of Non-Ferrous Metal Powders Technologies and Applications [en línea]. 2 ed. Estados Unidos: Elsevier, 2019, p. 995 [Consultado: 03 de junio de 2019]. Sección A, Powder Characterization and Testing. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780081005439000014>

⁷⁶ OSPINA. Op. cit., p. 87

⁷⁷ PANTANO, Laura y URREGO, Aura. Evaluación de la extracción de aceite de semillas de amapola mediante los métodos Soxhlet y prensado en frío a nivel laboratorio. [en línea]. Proyecto de grado para recibir el título de Ingeniero Químico. Fundación Universidad de América, 2018. [Consultado: 03 de junio de 2019]. Disponible en: <http://repository.uamerica.edu.co/bitstream/20.500.11839/6957/1/6132204-2018-2-IQ.pdf>

⁷⁸ NEIKOV. Op. Cit.; p. 55

⁷⁹ PANTANO. Op. Cit.; p. 60

⁸⁰ IXTAINA. Op. Cit.; p. 23

⁸¹ ROJAS. Op. Cit., p. 35

⁸² CARO, Axel. Breves normas de control de calidad en granos almacenados. En: Coin FAO [sitio web]. Quito: Poscosecha y Mercadeo MAG-FAO. [Consultado: 08 de mayo de 2019]. Archivo PDF. Disponible en: <https://coin.fao.org/coin-static/cms/media/20/13950919933370/c11.pdf>

aire intersticial, siendo mínimo cuando las partículas son lisas, pertenecen a aglomerados compactos y tienen un rango de tamaño de partícula⁸³.

El estudio la densidad de partícula, permite estimar la capacidad de almacenamiento y transporte durante el manejo de la materia prima. Esta propiedad se encuentra influenciada por factores como: la forma del sólido, la distribución del tamaño de partícula⁸⁴, el contenido de humedad cuando se habla de materiales biológicos⁸⁵ y el grado de compactamiento (los sólidos se empaquetan de acuerdo al movimiento al que son sometidos)⁸⁶, de acuerdo a esta última característica, y por lo tanto a la posición de los sólidos dentro de un espacio de medición, la densidad aparente puede clasificarse en dos clases:

- Densidad aparente aireada, en la cual, debido a la aireación, el volumen de los sólidos es máximo⁸⁷, ésta se puede determinar permitiendo que una cantidad de material, llene un contenedor con volumen conocido bajo la influencia de la gravedad (sin compresión).
- Densidad aparente empacada, que resulta después de golpear mecánicamente el recipiente que contiene la muestra sólida. Su medición puede realizarse específicamente de la siguiente manera: Se introduce suavemente una cantidad conocida de material en un cilindro graduado (sin compactar los sólidos), posteriormente se golpea mecánicamente el cilindro, elevándolo y permitiéndole que caiga por su propio peso⁸⁸, se mide el nuevo volumen.
- Densidad real: Se refiere a la relación entre el peso del material y el volumen real ocupado por el mismo, excluyendo los espacios vacíos o libres⁸⁹. A pesar que esta propiedad no se requiere para el diseño de equipos de almacenamiento

⁸³ AUGUSTIN, Mary and CLARKE, Phillip. Dry Milk Products [en línea]. En: CHANDAN, Ramesh y KILARA, Arun. Dairy Ingredients for Food Processing. Oxford (UK): Wiley-Blackwell, 2009. p. 148-149. [Consultado: 08 mayo 2019]. Disponible en:

https://books.google.com.co/books?id=XNWBDwAAQBAJ&pg=PA141&lpg=PA141&dq=AUGUSTIN,+Mary+and+CLARKE,+Phillip.+Dry+Milk+Products&source=bl&ots=YxeMX2mehr&sig=ACfU3U0q1Du_kF94bVDRH2YAKDzNZAJMHg&hl=es&sa=X&ved=2ahUKEwi8h1b1mc_jAhWLxVkkHSSODsEQ6AEwDXoECAgQAQ#v=onepage&q=AUGUSTIN%2C%20Mary%20and%20CLARKE%2C%20Phillip.%20Dry%20Milk%20Products&f=false

⁸⁴ Ibid., p. 149

⁸⁵ OGinni, Oluwatosin Jerry. Contribution of Particle Size and Moisture Content to Flowability of Fractioned Ground Loblolly Pine [en línea]. Tesis para optar por el título de Maestro en Ciencia. Universidad de Auburn, 2014. [Consultado: 08 de mayo de 2019]. Disponible en: <https://etd.auburn.edu/xmlui/handle/10415/4178>

⁸⁶ MAGAÑA, Giovanni y SIBRIAN, Oscar. Propuesta del diseño para el escalamiento a planta industrial, partiendo de una planta piloto, para el precocido y beneficiado de arroz [en línea]. Trabajo de grado para optar al título de Ingeniero Químico e Ingeniero de Alimentos respectivamente. Universidad de El Salvador, 2008. [Consultado: 09 mayo 2019]. Disponible en: <https://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:SKrk2IHU05MJ:https://core.ac.uk/reader/11227702+&cd=1&hl=es&ct=clnk&gl=co>

⁸⁷ AUGUSTIN. Op. Cit., p. 148-149

⁸⁸ AMIDON, G; MEYER, P. y MUDIE D. Particle, powder and compact characterization [en línea]. En: Qiu, Y. *et al.* Developing Solid Oral Dosage Forms. 2 ed. Nueva York: Editorial Elsevier, 2017. p.281 [Consultado: 09 de mayo de 2019]. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802447-8.00010-8>

⁸⁹ CARO. Op. Cit., p. 10

como silos, resulta útil para el diseño de sistemas de ventilación y enfriamiento de la materia prima durante esta etapa⁹⁰.

La densidad puede expresarse en gramos por mililitro (g/mL) debido a que las mediciones pueden realizarse utilizando probetas, sin embargo, la unidad internacional es kilogramo por metro cúbico (kg/m³)⁹¹.

1.2.7 Índice de compresibilidad. El índice de compresibilidad se ha convertido en una metodología sencilla y rápida para la predicción de las características de flujo de materiales sólidos; corresponde a una medida indirecta de la forma y el tamaño del sólido, el contenido de humedad, el área superficial, la cohesión existente entre las partículas y la densidad aparente de las mismas, todas las propiedades mencionadas, influyen en la determinación del índice de compresibilidad⁹².

Cómo su nombre lo indica, esta propiedad permite expresar que tan propenso es un conjunto de partículas a la compresión, por lo tanto, corresponde a una medida de la interacción entre las partículas y de la facilidad de asentamiento de una muestra sólida, luego de ser sometida a fuerzas mecánicas o vibratorias⁹³. Cuando la interacción entre las partículas es fuerte, se habla de que el material posee poca fluidez (comportamiento que puede reflejarse entre la diferencia de valores de la densidad aparente aireada y empacada del mismo). Por el contrario, las interacciones débiles son características de materiales que fluyen libremente⁹⁴.

1.2.8 Humedad. Esta propiedad influye en el comportamiento de los sólidos durante el manejo poscosecha, especialmente en el procesamiento y almacenamiento. Un elevado contenido de agua puede generar pérdidas en semillas o granos⁹⁵, pues afecta la calidad microbiológica y la funcionalidad de los materiales; la humedad, corresponde a una de las propiedades económicamente importantes en la fabricación de polvos⁹⁶.

⁹⁰ OGINNI. Op. Cit., p. 16

⁹¹ FARMACOPEDIA DE LOS ESTADOS UNIDOS MEXICANOS. Densidad aparente y densidad compactada en polvos. En: Repositorio, documentos farmacopeia [sitio web]. México: FEUM. [Consultado: 23 mayo 2019]. Archivo pdf. Disponible en: <https://www.farmacopea.org.mx/Repositorio/Documentos/258.pdf>.

⁹² UNITED STATES PHARMACOPEIA, USP. Powder Flow. The United States Pharmacopeia Convention. [Sitio web]. Estados unidos: USP. [Consulta 3 Junio 2019]. Archivo PDF. Disponible: en Internet en: https://www.usp.org/sites/default/files/usp/document/harmonization/gen-chapter/g05_pf_30_6_2004.pdf

⁹³ OGINNI. Op. Cit., p. 19

⁹⁴ FARMACOPEDIA DE LOS ESTADOS UNIDOS MEXICANOS. Op. Cit., p. 3

⁹⁵ ROJAS, Angel Francisco. Caracterización físico-mecánica de la semilla de Vitabosa (*Mucuna deeringiana*) [en línea]. Trabajo para optar por el título de Magister en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Universidad Nacional de Colombia, 2010. [Consultado: 03 junio 2019]. Disponible en: <http://www.bdigital.unal.edu.co/1855/1/87571797.2010.pdf>

⁹⁶ AUGUSTIN, M; CLARKE, P. y CRAVEN, H. Powdered Milk | Characteristics of Milk Powders [en línea]. En: TRUGO, Luiz y FINGLAS, Paul M. Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition. 2 ed. Editorial Academic Press, 2003. p. 4705 [Consulta 3 Junio 2019]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B012227055X009561>

1.3 METODOS DE EXTRACCIÓN DE ACEITE

A continuación, se describen algunos métodos de extracción de aceite que pueden utilizarse para obtener sustancias oleosas a partir de residuos agroindustriales como la semilla de aguacate. Es importante mencionar, que la obtención de aceite es el primer paso para la separación de algunos compuestos bioactivos, como se detalla en las secciones 2.1 y 2.4 respectivamente

1.3.1 Extracción asistida por microondas (MAE). Esta nueva técnica de extracción ha recibido una atención significativa para la extracción de fitoquímicos, ya que algunos de ellos proporcionan beneficios para la salud. Además, en comparación con las técnicas convencionales, el MAE ofrece muchas ventajas, como menos tiempo de arranque, calentamiento más rápido, alto rendimiento energético, ahorro de espacio, control preciso del proceso, calentamiento selectivo y alimentos con alta calidad nutricional⁹⁷.

1.3.1.1 Calentamiento dieléctrico de microondas. Las microondas son ondas electromagnéticas, generadas por un campo eléctrico y un campo magnético, que oscilan perpendicularmente entre sí, en un rango de frecuencias que van desde 0,3 a 300 GHz, correspondientes a longitudes de onda de 1 m a 1 mm. Sin embargo, la mayoría de los equipos comerciales están diseñados para funcionar a 2450 MHz, lo que los hace adecuados para aplicaciones de investigación e instalaciones de pequeña capacidad, mientras que los 915 MHz se utilizan para fines industriales⁹⁸.

Las propiedades dieléctricas (constante dieléctrica y factor de pérdida dieléctrica) se ven afectadas principalmente por la temperatura de operación y la frecuencia de microondas utilizada⁹⁹. Por tanto, la eficiencia del calentamiento por microondas depende de la capacidad del material para absorber la energía del microondas y disipar el calor¹⁰⁰.

El calentamiento por microondas puede actuar directamente sobre las moléculas por dos mecanismos: la conducción iónica y la rotación del dipolo, y en la mayoría de los casos, ambos ocurren simultáneamente. El calor es generado por la fricción causada por (1) la diferencia de fase entre la orientación del campo que cambia alternativamente en la dirección y la del dipolo, que tiende a alinearse con el campo eléctrico, y (2) por la resistencia de la solución a la migración de iones bajo la influencia del campo eléctrico cambiante¹⁰¹.

⁹⁷ SUMNU. Op., p 419.

⁹⁸ RODRÍGUEZ, Paula, *et al.* Microwave-Assisted Water Extraction [en línea]. En: DOMINGUEZ, Herminia y GONZÁLEZ, María. Water Extraction of Bioactive Compounds. Ourense (España): Elsevier, 2017. 164p. [Consultado: 09 febrero 2019]. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809380-1.00006-1>

⁹⁹ CHANDRASEKARAN, S; RAMANATHAN, S. y BASAK, Tanmay. Microwave food processing- A review [en línea]. En: Food Research International. Marzo, 2013, vol. 52, p. 244. [Consultado: 30 enero 2019]. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.02.033>

¹⁰⁰ RODRÍGUEZ. Microwave-Assisted Water Extraction. Op. cit., p. 165.

¹⁰¹ Ibid., p. 164-165

1.3.1.2 Mecanismo de extracción asistida por microondas de compuestos vegetales. En el procesamiento térmico convencional, la energía se transfiere al material debido a los gradientes térmicos a través de la convección, la conducción y la radiación, y gran parte de la energía térmica se pierde en el medio ambiente; mientras que, en el calentamiento por microondas, la energía se entrega directamente a los materiales a través de la interacción molecular con el campo electromagnético y prácticamente no se pierde calor en el medio ambiente¹⁰².

En los procesos de extracción los efectos de la radiación por microondas se basan principalmente en los efectos térmicos que conducen a (1) propiedades fisicoquímicas y de transporte mejoradas de solventes y solutos y (2) el daño estructural de la matriz. Donde el cambio en la dirección del campo eléctrico induce la rotación, vibración y oscilación de las moléculas, intensificando el movimiento y la colisión, debilitando los enlaces de hidrógeno y facilitando así la interrupción de las interacciones soluto-matriz¹⁰³.

Durante el MAE, la energía absorbida por las moléculas polares causa un sobrecalentamiento interno rápido con la vaporización del líquido y la presión acumulada en las células. La destrucción de las paredes celulares mejora la estructura capilar-porosa de los tejidos y facilita una difusión más rápida del sólido de los metabolitos de ambas plantas ubicados en las paredes celulares o en el citoplasma¹⁰⁴.

1.3.1.3 Tipos de tecnologías y configuraciones. En los últimos años, se han desarrollado modificaciones o ajustes en los equipos de microondas con el objetivo de obtener mejores rendimientos en el tiempo de procesamiento, ya que también reducen el uso de solventes o, en algunos casos, para evitarlos por completo¹⁰⁵. Los procesos de extracción por microondas pueden operar en diferentes configuraciones. Dependiendo de la presión de trabajo, los sistemas de microondas se pueden clasificar en recipientes abiertos, si la operación se realiza a presión atmosférica, o recipientes presurizados cerrados con solvente por encima de su punto de ebullición¹⁰⁶.

¹⁰² Ibid., p. 166

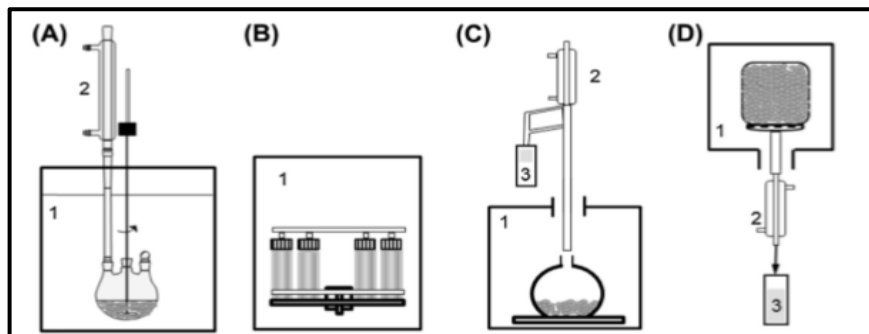
¹⁰³ Ibid., p. 166-167

¹⁰⁴ Ibid., p. 167

¹⁰⁵ DORANTES, Lidia, *et al.* Microwave-Assisted Extraction of Phytochemicals and Other Bioactive Compounds. [en línea]. En: Reference module in food science. Xalapa (México): Elsevier, 2017. p. 1. [Consultado: 09 febrero 2019]. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.21437-6>

¹⁰⁶ RODRÍGUEZ. Microwave-Assisted Water Extraction. Op. cit., p. 167.

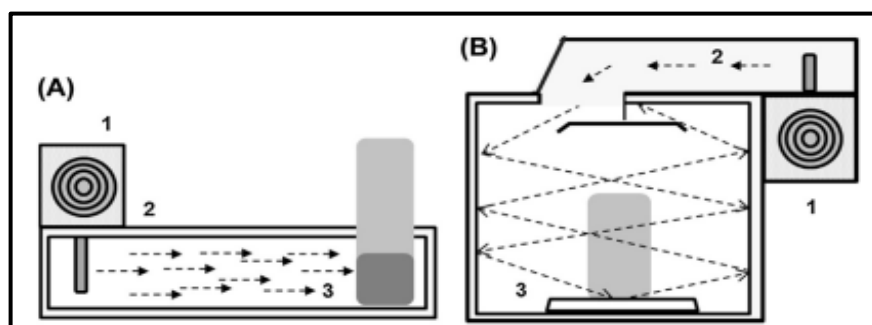
Imagen 5. Algunas configuraciones básicas utilizadas para la extracción asistida por microondas: (A) recipiente abierto, (B) recipiente cerrado, (C) destilación asistida por microondas y (D) hidrogravidad por microondas. (1) Horno de microondas, (2) enfriador, (3) frasco de recepción.



Fuente: elaboración propia, con base en RODRÍGUEZ, Paula, *et al.* Microwave-Assisted Water Extraction [en línea]. En: DOMINGUEZ, Herminia y GONZÁLEZ, María. Water Extraction of Bioactive Compounds. Ourense (España): Elsevier, 2017. 170p. [Consultado: 09 febrero 2019]. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809380-1.00006-1>

Según de la distribución de radiación en el equipo, la operación se puede realizar en modo simple o monomodo, cuando la radiación proporciona una distribución homogénea en una zona restringida; o en multimodo, cuando la radiación se refleja en las paredes y produce una dispersión aleatoria de radiación. Los elementos principales de los equipos monomodo y multimodo son el magnetrón o el generador de microondas; la guía de onda, utilizada para propagar el microondas desde la fuente hasta la cavidad del microondas; el aplicador, donde se coloca la muestra; y el circulador, que permite que el microondas avance¹⁰⁷.

Imagen 6. Radiación en (A) Modo simple y en (B) Multimodo. (1) Magnetron, (2) Guía de onda, (3) Aplicador.



Fuente: elaboración propia, con base en RODRÍGUEZ, Paula, *et al.* Microwave-Assisted Water Extraction [en línea]. En: DOMINGUEZ, Herminia y GONZÁLEZ, María. Water Extraction of Bioactive Compounds. Ourense (España): Elsevier, 2017. 170p. [Consultado: 09 febrero 2019]. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809380-1.00006-1>.

¹⁰⁷ Ibid., p. 167-169

Extracción por ultrasonido. El ultrasonido al igual que la técnica de extracción asistida por microondas, se utiliza en el pretratamiento de muestras; la cual consiste en el uso sonidos con frecuencias superiores a 20 kHz, que se encuentran por encima del umbral humano¹⁰⁸. La técnica se basa en el fenómeno de cavitación acústica, mediante el cual se generan fuerzas de corte o cizallamiento en la superficie de las partículas que promueven su desgaste¹⁰⁹, causando la fractura de las paredes celulares en la muestra vegetal, y por lo tanto, facilitando la penetración del disolvente, lo anterior, permite la liberación del compuesto intracelular¹¹⁰. Se ha demostrado que el pretratamiento de muestras utilizando ultrasonido, puede disminuir los tiempos de proceso de metodologías como soxhlet ¹¹¹.

Existen dos formas para la aplicación de ultrasonido:

- **Contacto indirecto:** Consiste en un baño de ultrasonido que se llena con un medio líquido, funciona a frecuencias de 20 o 40 kHz¹¹² y posee generalmente, salida ultrasónica, temperatura y tiempo programables. En él, los recipientes que almacenan la muestra y el disolvente de extracción están sumergidos, lo que permite la irradiación de ondas ultrasónicas que viajan en el medio líquido hasta que alcanzan las paredes del recipiente que contiene la muestra. Las ondas aplicadas, generan ciclos de expansión que crean burbujas e inducen una presión localizada con considerable intensidad; cuando las burbujas se expanden hasta cierto punto, sufren un colapso implosivo capaz de destruir las paredes celulares de las células del material utilizado¹¹³.

¹⁰⁸ XUAN, Chin. Optimization of ultrasound-assisted aqueous extraction to produce virgin avocado oil with low free fatty acids [en línea]. En: Journal of Food Process Engineering. Noviembre, 2017, vol. 41:e12656, p. 1 – 2. [Consultado: 04 febrero 2019]. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/jfpe.12656>

¹⁰⁹ CAMPO, Yesenia; GELVEZ, Víctor y AYALA, Alfredo. Ultrasonido en el procesamiento (homogenización, extracción y secado) de alimentos [en línea]. En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial. Enero – Junio, 2018, vol. 16, no. 1. p. 106. [Consultado: 30 Julio 2019]. ISSN: 1909-9959. DOI: 10.18684/bsaa.v16n1.628

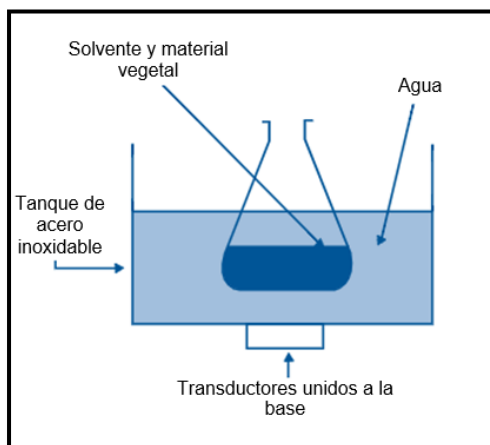
¹¹⁰ SPINELLA, Maria, *et al.* Extracción de aceite asistida por ultrasonido de granos de girasol alto esteárico alto oleico. En: Asociación Argentina de Ingenieros Químicos [sitio web]. Argentina: AAIQ [Consultado: 30 Julio 2019]. Archivo pdf. Disponible en: http://www.aaiq.org.ar/SCongresos/docs/06_029/papers/05a/05a_1816_159.pdf

¹¹¹ HIELSCHER. Ultrasonidos Extracción soxhlet [en línea]. [Consultado: 28 agosto 2019]. Disponible en: <https://www.hielscher.com/es/ultrasonic-soxhlet-extraction.htm>

¹¹² MEDINA, Nelly. Efecto del ultrasonido en la extracción y nanoencapsulación de polifenoles de limón persa (Citrus Latifolia) [en línea]. Tesis para optar por el título de Maestro en ciencia y tecnología en la especialidad de innovación biotecnológica. Centro de investigación y asistencia en tecnología y diseño del estado de Jalisco, a. c., 2017. [Consultado: 30 Julio 2019]. Disponible en: <https://ciatej.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1023/447/1/Nelly%20Carolina%20Medina.pdf>

¹¹³ XUAN. Op. Cit., p. 1-2

Imagen 7. Esquema del equipo de baño ultrasónico.



Fuente: elaboración propia, con base en AZUOLA, Rocío y VARGAS, Pedro. Extracción de sustancias asistida por ultrasonido (EUA) [en línea]. En: Tecnología en Marcha. Noviembre, 2007, vol. 20, no.4. p. 35. [Consultado: 04 febrero 2019] Disponible en: https://revistas.tec.ac.cr/index.php/tec_marcha/article/view/449

- **Contacto directo:** Consiste en un sistema de extracción acoplado a una sonda que permite el contacto directo con la muestra y por lo tanto desarrollar una potencia superior a la generada con el baño ultrasónico (de hasta 100 veces más)¹¹⁴.

1.3.2 Extracción por soxhlet. Consiste en un método de extracción sólido – líquido, que permite la separación de lo(s) componente(s) objetivo (generalmente compuestos lipídicos) que se encuentran contenidos en un material sólido, mediante el uso de solventes (fase líquida). El procedimiento de extracción consiste en el llenado de un dedal (F) con la muestra sólida disponible, el cual, estará en continuo contacto con el solvente condensado con el fin de separar los componentes solubles o afines al mismo¹¹⁵.

El equipo se conforma de un condensador tipo bulbo (A), un extractor (en el cual se almacena el dedal y que corresponde a la parte intermedia del instrumento B) y un matraz que contiene el solvente (C)¹¹⁶. El diseño del equipo permite que, una vez calentado el solvente, los vapores del mismo asciendan a través del tubo lateral externo (D), lleguen al condensador donde pasan a fase líquida, y desciendan al

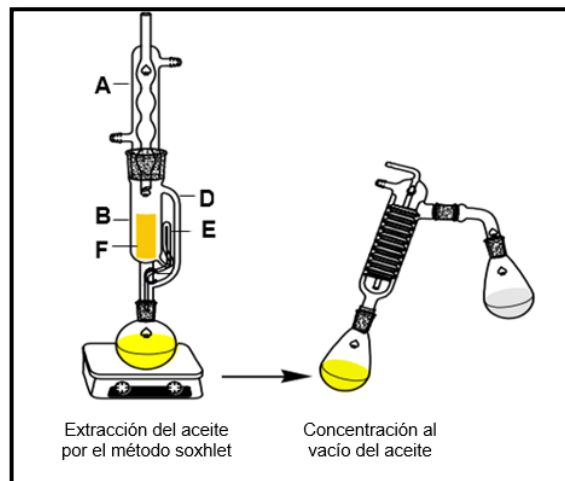
¹¹⁴ MEDINA. Op. Cit., p.10

¹¹⁵ TORO. Op. Cit., p.54

¹¹⁶ LOPEZ. Op. Cit., p. 32

extractor, de modo que se genere contacto entre el solvente y la muestra (F), una vez se llene este contenedor intermedio B, el equipo hace sifón, vaciando el solvente por el tubo lateral interno (E) hacia el matraz¹¹⁷. A continuación, se muestra el equipo soxhlet junto con el rotavaporador, el cual es utilizado para concentrar la sustancia oleosa obtenida luego de la extracción (bajo condiciones de vacío).

Imagen 8. Esquema del equipo de extracción soxhlet y rotavaporador.



Fuente: elaboración propia, con base en LÓPEZ, Juan. Estandarización de la técnica de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas para la identificación y cuantificación de metilésteres de ácidos [en línea]. Trabajo de grado para optar al título de Tecnólogo Químico. Universidad Tecnológica de Pereira, 2008. [Consultado: 29 Julio 2019]. Disponible en: <https://core.ac.uk/download/pdf/71395469.pdf>

¹¹⁷ TALAVERANO, Alagón. Determinación de compuestos fenólicos, carotenoides, fitoesteroles, tocoferoles, ácidos grasos y capacidad antioxidante en aceites extraídos de semillas de dieciséis accesiones de *Plukenetia Volubilis* L. (Sacha Inchi) [en línea]. Tesis de pregrado para obtener el título de Químico Farmacéutico. Universidad Católica de Santa María, 2012. [Consultado: 04 febrero 2019]. Disponible en: <http://tesis.ucsm.edu.pe/repositorio/handle/UCSM/3839>

1.4 CARACTERIZACIÓN DE ACEITES VEGETALES

La caracterización de aceites vegetales, permite la identificación y cuantificación de las características relacionadas con la calidad de estas sustancias oleosas, como su pureza, autenticidad, vida útil, valor nutricional entre otros. Se utilizan para garantizar que cumplan los requisitos definidos por las normas establecidas y, por lo tanto, evitar la incorporación de productos que afecten la salud de las personas. También sirven para determinar índices, que indican la cantidad equivalente de un compuesto, necesario para reaccionar con ciertos grupos funcionales presentes en una masa de grasa dada¹¹⁸.

1.4.1 Densidad. Es la relación entre el peso o la masa de un volumen dado de una sustancia en una condición específica de temperatura y presión. Esta propiedad no representa un parámetro directo de la calidad del aceite, aunque puede variar con la polimerización u oxidación. Es muy útil para transformaciones de masa-volumen y especialmente para los cálculos involucrados en el diseño de equipos¹¹⁹.

1.4.2 Índice de refracción. Se define como la velocidad relativa a la cual la luz se mueve a través de un material con respecto a su velocidad en el vacío¹²⁰. Es una determinación física que se relaciona con el peso molecular de la sustancia, el grado de insaturación, el grado de conjugación de los componentes y la longitud de sus cadenas, que depende de la temperatura. Se utilizan pequeñas variaciones para verificar la identidad, calidad y pureza del aceite¹²¹. Además, se correlaciona con el contenido de sólidos de muchos alimentos líquidos, como jarabes, leche y jugos. Por lo tanto, los instrumentos para medir el índice de refracción pueden informar los resultados en términos de composición y pueden utilizarse para controlar las operaciones de mezcla¹²².

1.4.3 Índice de saponificación. El valor de la saponificación (SV) es la cantidad de álcali (en este caso, mg de hidróxido de potasio) necesaria para saponificar una cantidad definida de grasa o aceite, en la que están involucrados triglicéridos, diglicéridos, monoglicéridos, ácidos libres y cualquier otro lípido saponificable.

¹¹⁸ MANRIQUE, Guillermo. Caracterización de grasas y aceites. En: Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires. [sitio web]. Buenos Aires. [Consultado: 25 agosto 2019]. Archivo pdf. Disponible en: https://www.fio.unicen.edu.ar/usuario/gmanrique/images/Grasas_y_Aceites.pdf

¹¹⁹ ACOSTA, Martha. Evaluación y escalamiento del proceso de extracción de aceite de aguacate utilizando tratamiento enzimático [en línea]. Tesis: Magister en Ingeniería Química. Universidad Nacional de Colombia, 2011. p. 21. [Consultado: 13 septiembre 2018]. Disponible en: <http://bdigital.unal.edu.co/4070/1/marthaceciliaacostamoreno.2011.pdf>

¹²⁰ HOUCK, Max y SIEGEL, Jay. Fundamentals of Forensic Science [en línea]. 3 rd. Academic Press, 2015. Separation Methods. p. 142. [Consultado: 16 mayo 2019]. ISBN. 978-0-12-800037-3. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/C2013-0-12985-6>.

¹²¹ RINCON, Sandra y MARTÍNEZ, Daniel. Análisis de las propiedades del aceite de palma en el desarrollo de su industria [en línea]. En: Palmas. Agosto, 2009, vol. 30. no. 2, p. 16. [Consultado: 16 mayo 2019]. Disponible en: <https://publicaciones.fedepalma.org/index.php/palmas/article/view/1432>.

¹²² CLARK, J.P. Plant Design: Process Control and Automation [en línea]. En: CABALLERO, Benjamin. Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition. 2 nd. Academic Press, 2003. p. 4602-4606. [Consultado: 16 mayo 2019]. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/B0-12-227055-X/00014-6>. ISBN. 978-0-12-227055-0

Equivalente a la masa en mg de KOH necesaria para neutralizar los ácidos grasos libres y los ácidos grasos liberados de los glicéridos, luego de su saponificación¹²³. También es indirectamente una medida del peso molecular promedio de los triglicéridos de una grasa y, por lo tanto, un número característico. Cuando estos pesos moleculares son bajos, el gramo requerirá más hidróxido de potasio (aceite de coco SV = 250), y donde sean altos, requerirá menos (aceite de colza SV = 175)¹²⁴. Además, la saponificación también ayuda a solubilizar grandes cantidades de otros componentes de los alimentos, como las proteínas y los carbohidratos, que de otro modo interferirían con la extracción y el análisis¹²⁵.

1.4.4 Índice de yodo. Indica el grado de insaturación de una grasa o aceite, según lo determinado por la absorción de halógeno. Debido a que el punto de fusión y la estabilidad oxidativa están relacionados con el grado de insaturación, el valor del yodo (IV) proporciona una estimación de estos factores de calidad. A mayor valor de yodo, mayor insaturación y mayor susceptibilidad a la oxidación. El aceite de cacahuete (IV: 82–107) está más saturado que los aceites de maíz (IV:103–128), de algodón (IV: 99–113) o de linaza (IV: 155–205); sin embargo, es considerablemente menos saturado que los aceites de coco (IV: 7.7–10.5), palma (IV: 44–54) o mantequilla (IV 25–42). Los resultados se expresan como el número de gramos de yodo absorbido por 100 g de la muestra de aceite¹²⁶.

1.4.5 Índice de peróxidos. Es uno de los indicadores de calidad más utilizados para medir los productos primarios de la degradación oxidativa. A partir de este valor, se puede seguir la etapa de propagación del mecanismo de la cadena de radicales libres y la acumulación de hidroperóxidos. Sin embargo, no es posible utilizar el valor de peróxido solo para juzgar la calidad de los aceites comestibles, ya que los hidroperóxidos se descomponen durante el almacenamiento. Esta descomposición puede ocurrir más rápidamente dependiendo de ciertas condiciones como la temperatura, la luz o las trazas metálicas. No obstante, el valor de peróxido es un parámetro adecuado para medir el deterioro de la calidad a lo largo del tiempo. Un mayor valor de peróxido al comienzo del período de almacenamiento tiene un efecto negativo en la estabilidad de almacenamiento del aceite¹²⁷.

¹²³ MANRIQUE, Op cit., p. 1.

¹²⁴ PATTERSON, H.B.W. Quality and Control [en línea]. En: LIST, Gary y W. KING, Jerry. Hydrogenation of Fats and Oils. 2 ed. Academic Press and AOCS Press, 2011. p. 329-350. [Consultado: 05 mayo 2019]. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/C2015-0-02451-0>. ISBN. 978-1-893997-93-6

¹²⁵ SCOTTER, M.J. Colour Additives for Foods and Beverages [en línea]. Woodhead Publishing, 2015. Methods of analysis for food colour additive quality and safety assessment. p. 131-188. [Consultado: 05 mayo 2019]. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/B978-1-78242-011-8.00006-4>. ISBN. 978-1-78242-011-8.

¹²⁶ SANDERS, T.H. Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition [en línea]. 2 ed. Amsterdam: Elsevier, 2003. Ground nut oil. p. 2967-2974. [Consultado: 08 marzo 2019]. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/B0-12-227055-X/01353-5>. ISBN. 978-0-12-227055-0.

¹²⁷ MATTHÄUS, B. Oxidation in Foods and Beverages and Antioxidant Applications. Amsterdam: Elsevier. 2010. Oxidation of edible oils. p. 183-238. [Consultado: 08 marzo 2019]. Disponible en: <https://doi.org/10.1533/9780857090331.2.183>. ISBN. 978-1-84569-983-3.

1.4.6 Índice de acidez. Se define como el número de miligramos de hidróxido de potasio (KOH) necesarios para neutralizar los ácidos grasos en un gramo de muestra. Es una medida del contenido de ácidos grasos libres presentes en grasas y aceites. Este resultado es esencial como prueba de pureza, ya que permite extraer conclusiones sobre el estado de la materia prima, así como las reacciones de degradación que pueden haber ocurrido durante el tratamiento y almacenamiento del aceite¹²⁸.

1.4.7 Materia insaponificable. Se refiere a aquellas sustancias presentes en aceite o grasas que son solubles en disolventes apolares, pero que no sufren una reacción de saponificación por hidróxidos alcalinos, como es el caso de los esteroides, tocoferoles, tocotrienoles y carotenoides, entre otros¹²⁹.

1.5 FITOESTEROLES

Los fitoesteroides pertenecen a la familia de los triterpenos, denominados esteroides vegetales, compuestos que se encuentran dentro de las membranas de las células vegetales¹³⁰. Los fitoesteroides y los fitoestanoles, son moléculas que tienen una estructura química idéntica, con la diferencia de que los fitoestanoles están saturados, es decir sin dobles enlaces en su estructura básica. Se encuentran de forma natural en pequeñas cantidades en algunas frutas, verduras, frutos secos, semillas, leguminosas y otras fuentes vegetales¹³¹. Son parte de la fracción insaponificable, que es una parte menor y muy específica de los aceites vegetales, se producen en aceites en forma libre y conjugada, principalmente esteroides esterificados con ácidos grasos. En la planta, los fitoesteroides existen en cuatro formas diferentes, generalmente (i) esteroides libres (FS), (ii) ésteres de ácidos grasos o fenólicos (SE), (iii) glicósidos de esteroides (SG) y (iv) glicoles de esteroides acilados (ASG). Los SE, SG y ASG se conocen como esteroides conjugados.

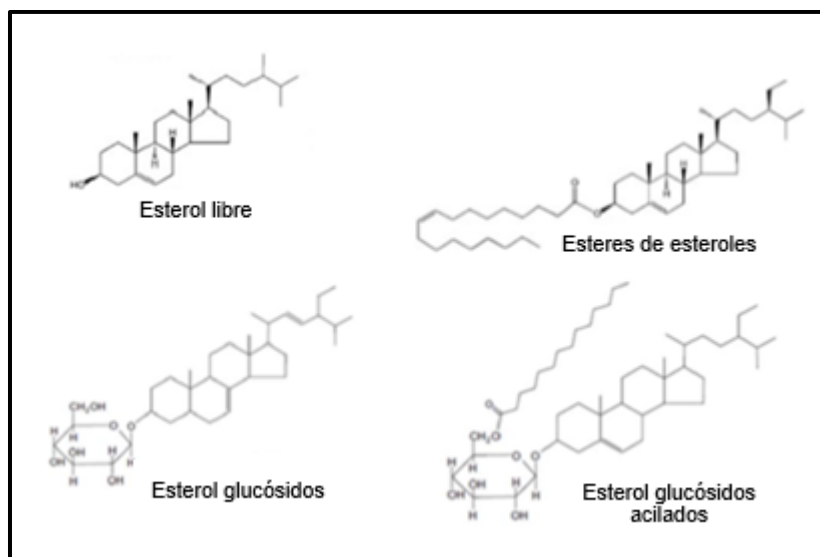
¹²⁸ ACOSTA. Op. cit, p. 22.

¹²⁹ RINCON. Op. cit, p. 16.

¹³⁰ García, Aída, *et al.* An Analytical Simplification for Faster Determination of Fatty Acid Composition and Phytosterols in Seed Oils [en línea]. *En*: Food Analytical Methods. Noviembre de 2017, vol. 11, p. 1234-1242. [Consultado: 13 septiembre 2018]. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s12161-017-1111-z>.

¹³¹ ROMERO, Johanna y VÁSQUEZ, Elsa. Fitoesteroides y Fitoestanoles: eficaces para la disminución de lípidos plasmáticos [en línea]. *En*: CES Salud Pública. Julio-Diciembre 2012, vol. 3, no. 2, p. 165-173. [Consultado: 13 septiembre 2018]. Disponible en: http://revistas.ces.edu.co/index.php/ces_salud_publica/article/view/2313/1550

Imagen 9. Principales grupos de esteroides vegetales.



Fuente: elaboración propia, con base en AGUIRRE, Marta. Evaluación de fitoesteroides en aceites de semillas de girasol modificadas genéticamente [en línea]. Tesis Doctoral. Universidad de Sevilla, 2012. p. 12. [Consultado: 14 octubre 2018]. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=57800>

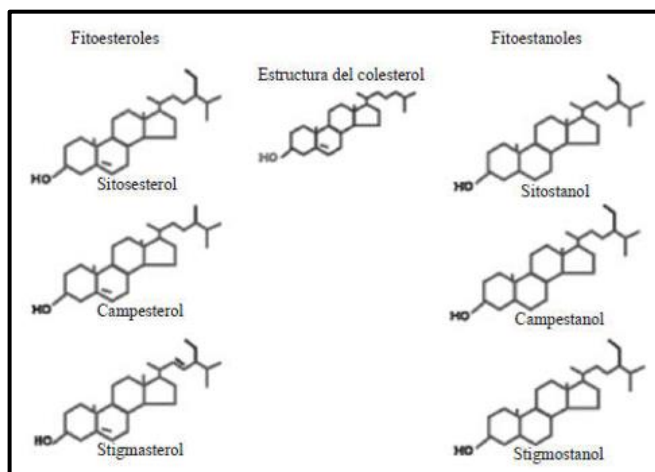
Tienen una estructura química muy similar a la del colesterol porque se derivan del ciclopentanoperhidrofenantreno. Sin embargo, presentan algunas diferencias en las que se encuentra que los fitoesteroides poseen un grupo metilo o etilo en la cadena lateral de la molécula. En el colesterol, esta cadena se forma por ocho carbonos saturados. En cambio, los fitoesteroides presentan 9 o 10 carbonos. Además, que estos no son sintetizados o formados por el cuerpo humano.¹³²

En la naturaleza, se han identificado más de 200 tipos diferentes de esteroides vegetales en diversas especies de plantas, siendo los más abundantes: el β -sitosterol, campesterol y estigmasterol, constituyendo el 95-98% de los fitoesteroides identificados¹³³.

¹³² MUÑOZ, Ana; ALVARADO, Carlos y ENCINA, Christian. Fitoesteroides y fitoesteranos: Propiedades saludables [en línea]. En: Horizonte Médico. Julio-Diciembre 2011, vol. 11, no. 2, p. 93-100. [Consultado: 13 septiembre 2018]. Disponible en: <http://doi.org/10.24265/horizmed>

¹³³ ROMERO. Op. cit. p. 168.

Imagen 10. Estructura de los fitoesteros, fitoestanos y del colesterol.

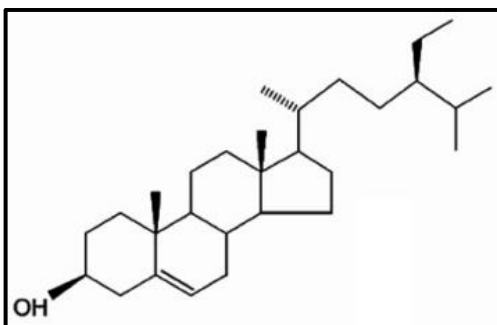


Fuente: Silva, Paola, et al. Fuentes naturales de fitoesteros y factores de producción que lo modifican [en línea]. En: Archivos Latinoamericanos de Nutrición. Enero 2016, vol. 66, no. 1, p. 017-024. ISBN: 0004-0622. [Consultado: 09 septiembre 2018]. Disponible en: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222016000100002&lng=es&nrm=iso&tlng=es

1.5.1 β - Sitoesterol. Es un fitoesterol, con estructura similar a la del colesterol de la grasa animal, se diferencia por la presencia de un grupo β -etil en el C-24 de la cadena lateral, lo que lo hace más lipofílico. Todas las plantas, incluyendo las frutas, verduras, granos, especies y semillas poseen este compuesto. Puede encontrarse en concentraciones mayores en los aceites de plantas que son una fuente particularmente rica en β -sitosterol, el cual se utiliza en concreto para tratar la hipertrofia prostática benigna, en el tratamiento de hipercolesterolemia, así como para modular la función inmune, la inflamación e interviene en el control de la producción de citocinas¹³⁴.

¹³⁴ PANIGUA, Rogelio. Evaluación de la capacidad antígeno tóxica, antioxidante e inmunoestimulante de pteropodina y beta-sitosterol [en línea]. Tesis Doctoral en Ciencias Químico-biológicas. Instituto Politécnico Nacional, 2010, p. 20. [Consultado: 28 octubre 2018]. Disponible en: <http://www.remeri.org.mx/portal/REMERI.jsp?id=oai:tesis.ipn.mx:123456789/10628>

Imagen 11. Molécula de β -sitosterol.

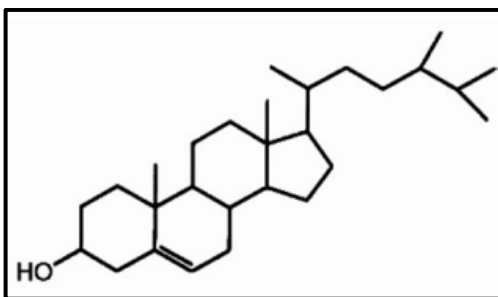


Fuente: FERNANDES, P y CABRAL, J.M.S. Phytosterols: Applications and recovery methods [en línea]. En: Bioresource Technology. Septiembre, 2007, vol. 98, p. 2336. ISSN: 0960-8524. [Consultado: 04 febrero 2019]. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.10.006>

1.5.2 Campesterol. Es un fitosterol, caracterizado por el grupo hidroxilo en la posición C-3 del esqueleto esteroideo y los enlaces saturados en toda la estructura del esteroil, con la excepción del doble enlace 5-6 en el anillo B. Los fitosteroles se producen naturalmente en pequeñas cantidades en los aceites vegetales, uno de estos complejos de fitosterol, aislado del aceite vegetal, es la colestatina, compuesta de campesterol, estigmasterol y brasicasterol, y se comercializa como un suplemento dietético¹³⁵.

¹³⁵ NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. Campesterol [en línea]. [Consultado: 18 agosto 2019]. Disponible en: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Campesterol>

Imagen 12. Molécula de Campesterol

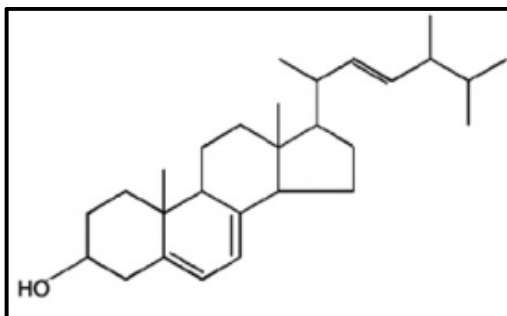


Fuente: FERNANDES, P y CABRAL, J.M.S. Phytosterols: Applications and recovery methods [en línea]. En: Bioresource Technology. Septiembre, 2007, vol. 98, p. 2336. ISSN: 0960-8524. [Consultado: 04 febrero 2019]. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.10.006>

1.5.3 Ergosterol. Es un esteroide vegetal que se compone de cuatro anillos aromáticos y una cadena lateral para un total de 28 átomos de carbono, se diferencia del colesterol en el átomo de carbono adicional (grupo metilo) en C-24, así como en otros dobles enlaces entre los carbonos 7: 8 y 22:23. También tiene 2 grupos metilo angulares en los carbonos 10 y 13. Sus productos de oxidación se han estudiado como componentes principales de los extractos de plantas debido a su contribución y posibles beneficios para la salud como un precursor biológico de la vitamina D₂ y propiedades farmacológicas importantes. Estos incluyen la reducción del dolor relacionado con la inflamación, la reducción de la incidencia de enfermedades cardiovasculares, las actividades antimicrobianas y antitumorales probadas en modelos animales y sistemas celulares¹³⁶.

¹³⁶ ARIAS, Andrés y Gil, Diana. Estandarización de la técnica cromatografía de gases capilar para la identificación y cuantificación de fitoesteroles en semillas de *Luffa Cylindrica* [en línea]. Trabajo de grado Químico Industrial. Universidad Tecnológica de Pereira, 2012, p. 34. [Consultado: 30 septiembre 2018]. Disponible en: <http://recursosbiblioteca.utp.edu.co/tesis/textoyanexos/66028423A696.pdf>

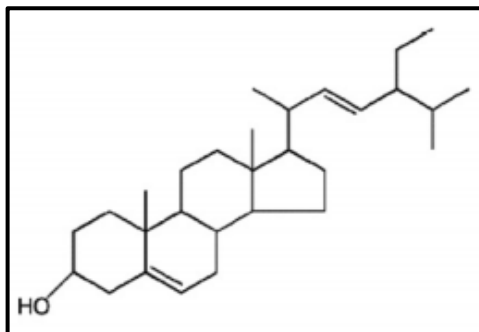
Imagen 13. Molécula de Ergosterol.



Fuente: FERNANDES, P. y CABRAL, J.M.S. Phytosterols: Applications and recovery methods [en línea]. En: Bioresource Technology. Septiembre, 2007, vol. 98, p. 2336. ISSN: 0960-8524. [Consultado: 04 febrero 2019]. Disponible en:
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.10.006>

1.5.4 Estigmasterol. Es un esteroide vegetal insaturado que está presente en las semillas oleaginosas y en una serie de hierbas medicinales. Entre los usos más importantes del estigmasterol se encuentra que es un precursor de la vitamina D₃. Investigaciones han indicado que el estigmasterol puede ser útil en la prevención de los cánceres, incluidos los ovarios, la próstata, la mama y el colon¹³⁷.

Imagen 14. Molécula de Estigmasterol.



Fuente: FERNANDES, P y CABRAL, J.M.S. Phytosterols: Applications and recovery methods [en línea]. En: Bioresource Technology. Septiembre, 2007, vol. 98, p. 2336. ISSN: 0960-8524. [Consultado: 04 febrero 2019]. Disponible en:
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.10.006>

¹³⁷ ARIAS, Op. cit., p. 35.

1.5.5 Solubilidad de los fitoesteroles. Debido a su naturaleza lipofílica, los fitoesteroles exhiben una solubilidad mínima en soluciones acuosas. Su solubilidad en grasas y aceites dependerá de las propiedades de la grasa / aceite, así como de la temperatura. En general, los fitoesteroles se disuelven mejor en aceites más polares y esto puede atribuirse a la naturaleza parcialmente polar de los fitoesteroles, que es impartida por el grupo hidroxilo¹³⁸.

A fin de mejorar la solubilidad de la grasa, se introdujo la esterificación de los fitoesteroles con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga a fines de la década de 1980. Esta técnica aumentó en diez veces la solubilidad de los fitoesteroles en la grasa y permitió la incorporación de esteroides en productos alimenticios a base de grasas, como la grasa vegetal. Entre los ésteres de fitosterol, aquellos con un mayor número de dobles enlaces y una cadena de ácidos grasos más larga son más solubles. Estas características también están asociadas con una disminución en el punto de fusión, lo que hace que estos fitoesteroides sean más fáciles de incorporar en la matriz alimentaria¹³⁹.

1.5.6 Fuentes de obtención de los fitoesteroides. Las principales fuentes de fitoesteroides en la dieta básica son los aceites vegetales y las margarinas en la dieta occidental, mientras que en los países asiáticos son las verduras y los productos de soya. El pan y los cereales también pueden contribuir significativamente a la ingesta total de fitoesteroides. Las margarinas de aceite de cereal contienen aproximadamente un 0,5% de fitoesteroides, verduras y frutas de menos de un 0,05% (según su porción comestible), excepto los brotes de cebada, frijoles y guisantes, que contienen entre 0, 1 y 0,2%. Algunas semillas también son fuentes abundantes: las semillas de girasol y sésamo tienen de 0.5 a 0.7% y las leguminosas pueden tener hasta 0.22%. Otra fuente bien utilizada es el destilado de desodorización (DOD), que es un subproducto en la refinación de aceites vegetales como el girasol y los aceites de soja, por ejemplo. El proceso de refinación comprende varias etapas. El último de ellos, la desodorización, es un proceso de transferencia de masa mediante el cual algunas sustancias se evaporan del aceite a altas temperaturas (230 a 270 °C) y se reducen las presiones (0 a 1000 Pa). El destilado obtenido constituye del 0,1 al 0,3% del aceite y contiene del 8 al 20% del esteroide¹⁴⁰.

1.5.7 Beneficios de los fitoesteroides. Estos compuestos son el grupo de nutracéuticos más estudiado, con beneficios para la salud que han sido reconocidos durante más de siete décadas. Los primeros estudios sobre fitoesteroides se llevaron a cabo en los años veinte y treinta, donde demostraron que la alimentación de

¹³⁸ KALLINY, Silvana y ZAWISTOWSKI, Jerzy. Phytosterols and Phytosteranols [en línea]. En: Encyclopedia of Food Chemistry. Vancouver: Elsevier, 2019, p. 290-296. [Consultado: 04 febrero 2019]. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.21760-5>. ISBN.978-0-08-100596-5.

¹³⁹ *Ibid.*, p. 290-296.

¹⁴⁰ HUNG, Blanca, *et al.* Fitoesteroides. Parte 2: Fuentes de obtención, formas de uso y posición actual en el mercado [en línea]. En: Cenic. Mayo-Agosto 2008, vol. 39, no. 2, p. 98. ISSN: 0253-5688. [Consultado: 04 febrero 2019]. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=181214890009>.

animales con una dosis de 2 g de fitoesteroles consumidos diariamente durante tres a cuatro semanas¹⁴¹ produjo una inhibición de la hipercolesterolemia inducida por el consumo de colesterol, siendo muy eficaz para atenuar el riesgo de cardiopatía coronaria, a través de sus efectos hipocolesterolémicos, que son una función de su estructura química¹⁴². Además, entre las acciones atribuidas a los fitoesteroles se encuentran sus efectos anticancerígenos, antiinflamatorios, anti-úlceras, antioxidantes, bactericidas y fungicidas¹⁴³.

El efecto hipocolesterolémico que tienen se atribuye a tres acciones metabólicas: inhiben la absorción intestinal del colesterol al competir en la incorporación del colesterol a las micelas mixtas; disminuir la esterificación del colesterol en los enterocitos mediante la inhibición de la actividad de la acetil-colesterol-acilo transferasa (ACAT), y estimulan la salida de colesterol de los enterocitos a la luz intestinal al aumentar la actividad y la expresión de un transportador de tipo ABC.

La acción combinada de esteroles y / o estanoles sobre estos mecanismos produce una disminución en el colesterol total en plasma y el colesterol LDL, sin modificar los niveles de colesterol HDL¹⁴⁴.

1.5.8 Mercado. Existe una marcada tendencia a nivel mundial para aumentar el consumo de alimentos funcionales, ya que el concepto de una dieta saludable es cada vez más popular, debido a sus efectos preventivos y nutritivos. En los últimos años, ha aumentado el interés en el uso de los fitosteroles como ingredientes de alimentos funcionales y formulaciones nutraceuticas para la reducción del colesterol, e indirectamente, para la prevención de las enfermedades cardiovasculares, por lo que según la información proporcionada por Grand View Research, inc., el mercado mundial de fitoesteroles crecerá a una tasa anual prevista de 7,2% entre 2014 y 2020¹⁴⁵ debido a sus diferentes usos y aplicaciones. Recientemente se han desarrollado métodos novedosos para la extracción de lípidos de fuentes vegetales, como el ultrasonido y la asistida con microondas, pero estos han sido menos estudiados para los fitosteroles y aún no han alcanzado un nivel de explotación industrial. Es por ello, que la tendencia actual en el uso de los fitosteroles se centra principalmente en su consumo como suplemento nutricional y como aditivo en alimentos funcionales, este último es el más generalizado, con las

¹⁴¹ KALLINY, Op. cit. p. 296-297

¹⁴² MUÑOZ, Op. cit. p. 93-100

¹⁴³ AGUIRRE, Marta. Evaluación de fitoesteroles en aceites de semillas de girasol modificadas genéticamente [en línea]. Tesis Doctoral. Universidad de Sevilla, 2012. p. 19. [Consultado: 14 octubre 2018]. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=57800>

¹⁴⁴ DE ADÁ, Jorgelina. En: Universidad Fasta. [sitio web]. Argentina: Galletitas de salvado con aceite de canola y fitoesteroles. [Consultado: 28 octubre 2018]. Archivo pdf. Disponible en: http://redi.ufasta.edu.ar:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/435/2010_N_063.pdf?sequence=1

¹⁴⁵ GRAND VIEW RESEARCH, INC. Phytosterols market to grow at 7.2% CAGR from 2014 to 2020. [en línea]. [Consultado: 04 febrero 2019]. Disponible en: <https://www.grandviewresearch.com/press-release/global-phytosterols-market>

margarinas suplementadas con fitosteroles como producto líder, principalmente, de las firmas Cognis, ADM y Raisio, que controlan un 79 % del mercado total¹⁴⁶.

Tabla 4. Principales productos comerciales con fitoesteroles en el mercado de los alimentos funcionales.

Producto (Nombre comercial)	Compuesto activo	Tipo de producto	Productor	País
Benecol	Fitostanil éster	Margarina, queso crema, leche, yogurt	Raisio's Group	EE. UU, Europa
Take Control	Fitostanil éster	Margarina, aliños	Lipton/Unilever	EE. UU, Europa
Phytrol	Fitosteroles	Variado	Forbes Meditech	Canadá
Reduacol	Phytrol	Variado	Novartis	Varios
Cholesterol	Reduacol	Tabletas	Twinlabs Co.	EE. UU
Success				
Cholestatin	Fitosteroles	Tabletas	Degussa Bioactives Traco Labs	EE. UU
Logicol	Fitosteroles	Leche, spreads	Meadow Lea	Australia
Moducare	Fitosteroles	Cápsulas blandas, tabletas	Essential Sterolin Prod	Sudáfrica
Saw Palmetto	Fitosteroles y otros	Cápsulas blandas	Varios	EE. UU, Europa, África

Fuente: HUNG, Blanca, et al. Fitoesteroles. Parte 2: Fuentes de obtención, formas de uso y posición actual en el mercado [en línea]. En: Cenic. Mayo-Agosto 2008, vol. 39, no. 2, p. 98. ISSN: 0253-5688. [Consultado: 04 febrero 2019]. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=181214890009>

Los fitoesteroles se comercializan en una gran cantidad de formas: como nutracéuticos, formulados en forma de tabletas, cápsulas y en polvo. También se han agregado como aditivos en alimentos funcionales como la margarina, productos lácteos (leche, yogurt), aceites comestibles, edulcorantes, etc. Y recientemente se han añadido en productos cosméticos como champú y cremas por su acción humectante y regeneradora de la piel¹⁴⁷.

1.6 PRUEBA LIEBERMANN-BURCHARD

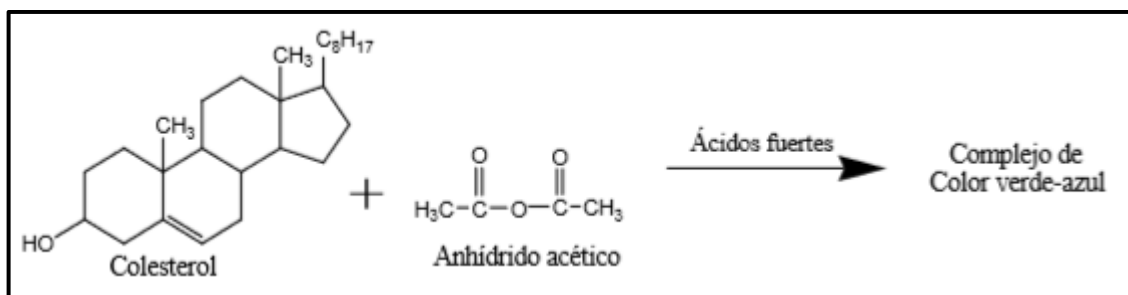
Se han propuesto varios ensayos colorimétricos para la identificación y cuantificación de derivados de esterol. La reacción descrita en 1885 por Liebermann y luego aplicada al análisis de colesterol por el procedimiento colorimétrico de Burchard es la más utilizada para el análisis de esteroides. Propuesto originalmente para la determinación clínica de los colesteroles, la reacción de Liebermann-Burchard también se ha utilizado con resultados satisfactorios para el análisis cualitativo-cuantitativo de esteroides de matrices de origen animal y vegetal¹⁴⁸.

¹⁴⁶ HUNG., Op. cit. p. 97.

¹⁴⁷ Ibid., p. 100.

¹⁴⁸ ARAUJO, Larissa, et al. Total phytosterol content in drug materials and extracts from roots of *Acanthospermum hispidum* by UV-VIS spectrophotometry [en línea]. En: Brazilian Journal of pharmacognosy.

Imagen 15. Reacción de Liebermann-Burchard.



Fuente: FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS. Reacciones de identificación y propiedades de los lípidos - Cromatografía en capa fina. En: FCV. [sitio web]. Venezuela: Reacciones de identificación y propiedades de los lípidos TLC. [Consultado: 23 marzo 2019]. Archivo pdf. Disponible en: http://www.fcv.luz.edu.ve/images/stories/catedras/bioquimica_i/identificacion_propiedades.pdf

El anhídrido acético se usa generalmente como un medio para la precipitación simultánea de las proteínas y la extracción del colesterol total presente en diferentes fluidos, ya que este reactivo puede reaccionar con el colesterol, en presencia de ácidos fuertes y en ausencia de agua, así como con otros esteroides relacionados porque tienen como estructura de base el ciclopentanoperhidrofenantreno, que causa un cambio de color debido a la deshidratación que se produce para la formación de dienos que forman un complejo de color rosa, violeta, azul y verde. Este complejo coloreado se forma haciendo reaccionar anhídrido acético con el grupo hidroxilo en la posición C₃ del anillo del colesterol¹⁴⁹.

1.7 TÉCNICAS CROMATOGRÁFICAS

A continuación, se describe la técnica de cromatografía de gases, utilizada en la detección de compuestos bioactivos, y los procesos de preparación de muestra involucrados en la determinación de fitoesteroides de acuerdo a la búsqueda bibliográfica realizada.

1.7.1 Extracción en Fase Sólida (SPE). La extracción en fase sólida, corresponde a una técnica de preparación y separación basada en los fundamentos de cromatografía líquida. Es utilizada para limpiar la muestra antes de un proceso de cuantificación de analitos objetivo, permitiendo la purificación de la matriz de análisis (eliminando las interferencias presentes en la misma), el mejoramiento simultáneo

Septiembre- Octubre de 2013, vol. 23, p. 736-737. [Consultado: 17 abril 2019]. Disponible en: <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2013000500004>

¹⁴⁹ MONTEALEGRE, Catalina. Etnobotánica preliminar del *Espíngo (Ocotea quixos (Lam.) Kosterm.)* en la medicina tradicional indígena inga, pruebas fitoquímicas y evaluación de la actividad antimicrobiana [en línea]. Trabajo de grado. Bióloga. Pontificia Universidad Javeriana, 2011. p. 28-48. [Consultado: 17 abril 2019]. Disponible en: <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/8875/tesis813.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

de la separación selectiva y la detección de los compuestos de interés¹⁵⁰. La SPE es comúnmente utilizada en la preparación de muestras para análisis por cromatografía líquida (HPLC), cromatografía de gases (GC), espectrometría de masas y electroforesis¹⁵¹.

La técnica funciona bajo las interacciones electrostáticas, iónicas, Van der Waals, etc., por lo que consiste en el paso de la muestra (líquida o gaseosa) a través de un soporte sólido, de modo que los analitos se absorben en el mismo y luego son eluidos teniendo en cuenta su afinidad entre la fase móvil (solventes de lavado y elución) y el sólido absorbente¹⁵². Este proceso se lleva a cabo mediante 4 etapas: acondicionamiento del instrumento (cartucho, placa o disco), introducción o carga de la muestra, eliminación o lavado del material indeseado y elución selectiva de las sustancias deseadas¹⁵³.

Las fases estacionarias o absorbentes utilizadas en esta técnica son generalmente de sílica gel o modificaciones de la misma, acompañadas de moléculas apolares como cadenas alquilo, aromáticos y moléculas polares o con polaridad intermedia que poseen radicales: diol, OH, CN y NH₂¹⁵⁴. Estas fases fijas poseen tamaños de partícula alrededor de 40 µm, tamaños de poro de 60 Å, en promedio¹⁵⁵ y se encuentran en cartuchos de vidrio, polipropileno u otros polímeros inertes.

La extracción en fase sólida, corresponde a una de las técnicas utilizadas en algunas metodologías para la preparación de lípidos y separación de fitoesteres, facilitando la diferenciación de los esteroides libres de aquellos que son insaponificables, mediante la utilización de solventes orgánicos como hexano y acetato de etilo como fase móvil¹⁵⁶.

¹⁵⁰ DE LA SERNA, David. Nuevas tendencias en preparación de muestras. En: Agilent Technologies [sitio web]. Santa Clara: Agilent Technologies - Opciones de columna para HPLC y UHPLC. [Consultado: 25 mayo 2019]. Disponible en: [https://www.agilent.com/cs/library/slidepresentation/public/1-Nuevas%20tendencias%20en%20Extraccion%20en%20Fase%20Solida%20\(SPE\)-8%20Marzo%20Almiral%20version%202.pdf](https://www.agilent.com/cs/library/slidepresentation/public/1-Nuevas%20tendencias%20en%20Extraccion%20en%20Fase%20Solida%20(SPE)-8%20Marzo%20Almiral%20version%202.pdf)

¹⁵¹ ARIAS, Op. cit., p. 22-23.

¹⁵² TEKNOKROMA ANALÍTICA SA. Extracción en fase sólida. En: Tk [sitio web]. Barcelona: Extracción en fase sólida SPE. [Consultado: 18 mayo de 2019]. Archivo pdf. Disponible en: <http://www.teknokroma.es/UserFiles/Filtracion/682.pdf>

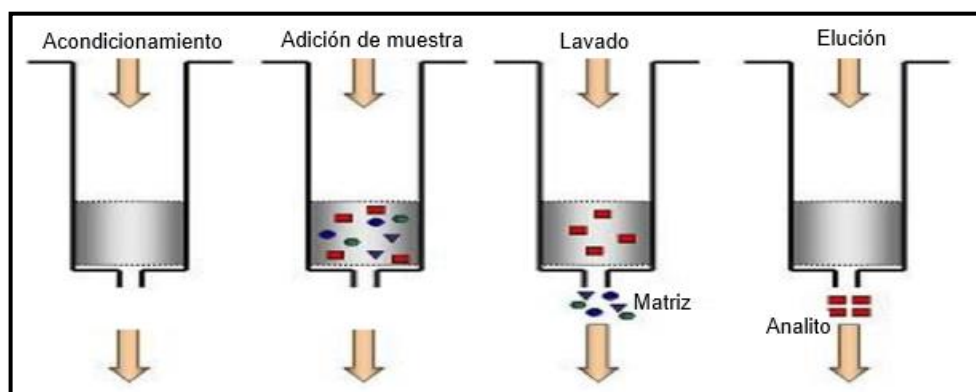
¹⁵³ DE LA SERNA. Op. Cit., p. 3

¹⁵⁴ ARIAS. Op. Cit., p. 22

¹⁵⁵ FERNANDEZ, Juliana y ARCILA, Luisa. Estudio de la fracción insaponificable obtenida del aceite extraído de la semilla de la Luffa Cylindrica. [en línea]. Tesis para optar el título de Tecnólogo Químico. Universidad Tecnológica de Pereira, 2008. p. 20-21. [Consultado: 02 julio 2019]. Disponible en: <https://docplayer.es/27921376-Estudio-de-la-fraccion-insaponificable-obtenida-del-aceite-extraido-de-la-semilla-de-la-luffa-cylindrica.html>

¹⁵⁶ ARIAS. Op. Cit., p. 24

Imagen 16. Esquema de los cartuchos utilizados en la extracción en fase sólida.



Fuente: elaboración propia, con base en ARIAS, Andrés y GIL, Diana. Estandarización de la técnica cromatografía de gases capilar para la identificación y cuantificación de fitoesteroles en semillas de *Luffa Cylindrica* [en línea]. Tesis de pregrado para optar al título de Químico Industrial. Universidad Tecnológica de Pereira, 2012. p. 25. [Consultado: 30 septiembre 2018]. Disponible en: <https://docplayer.es/68304332-Estandarizacion-de-la-tecnica-cromatografia-de-gases-capilar-para-la-identificacion-y-cuantificacion-de-fitoesteroles-en-semillas-de-luffa-cylindrica.html>

1.7.2 Cromatografía de Gases (CG). Consiste en una técnica de separación e identificación de compuestos semivolátiles o volátiles presentes en mezclas complejas (insecticidas, pesticidas, plaguicidas derivados de petróleo, aceites, ácidos grasos y esteroides¹⁵⁷), usada comúnmente para confirmar la presencia de un compuesto en una matriz o muestra, mediante la comparación del cromatograma de ésta última, con la de un estándar¹⁵⁸. La técnica se caracteriza por la utilización de una fase estacionaria (la cual se encuentra fija en el sistema) y una fase móvil que se desplazada a través de la fase anterior, de modo que pueda realizarse la separación del compuesto de interés¹⁵⁹.

Para el funcionamiento del equipo es necesario un gas portador (fase móvil) almacenado en una bala de presión controlada; la muestra es normalmente volatilizada e introducida en el inyector que se encuentra previamente calentado, allí se diluye en acompañamiento del gas portador inerte que pasa por una columna normalmente capilar (en la cual se encuentra fija la fase estacionaria) hasta llegar

¹⁵⁷ Ibid., p. 26

¹⁵⁸ GUTIÉRREZ M.C y DROGUET M. La cromatografía de gases y la espectrometría de masas: identificación de compuestos causantes de mal olor. En: CORE [sitio web]. Inglaterra: The Open University. [Consultado: 23 Julio 2019]. Archivo pdf. Disponible en: <https://core.ac.uk/download/pdf/41780740.pdf>

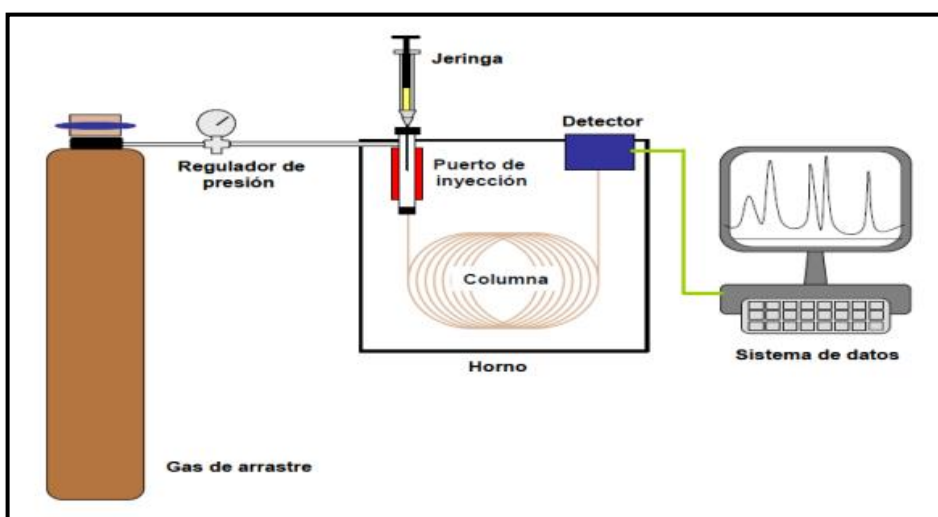
¹⁵⁹ ARIAS. Op. Cit., p. 21

al detector¹⁶⁰, la columna se encuentra ubicada en el interior de un horno que puede programarse en función de la temperatura.

La velocidad en la que migran los componentes y de manera simultánea, el tiempo de retención de los mismos en la columna, será consecuencia de la distribución entre la fase estacionaria y la fase móvil¹⁶¹. Cada analito presente en la muestra de análisis, posee una afinidad distinta hacia la fase estacionaria, lo que provoca que se mueva lenta o rápidamente en el gas inerte. Estas variaciones en la movilidad de los componentes, permite que los mismos se separen en zonas discretas que pueden estudiarse de forma cualitativa o cuantitativa¹⁶².

La cromatografía de gases, ha sido la técnica elegida para la determinación y cuantificación de esteroides, debido a los cortos tiempos de análisis, menor interferencia de pico y estabilidad térmica debido a la utilización de columnas capilares en comparación con las columnas empaquetadas¹⁶³

Imagen 17. Esquema de un Cromatógrafo de Gases.



Fuente: TORO, Natalia y SUÁREZ, Liseth. Obtención y caracterización del aceite de las semillas de *Vitis labrusca* L. (Uva Isabella) y evaluación de su actividad antioxidante [en línea]. Tesis de pregrado para optar al título de Químico Industrial. Universidad Tecnológica de Pereira, 2012. p. 64. [Consultado: 23 Julio 2019]. Disponible en: <http://recursosbiblioteca.utp.edu.co/tesis/textoyanexos/66029T686.pdf>

¹⁶⁰ FERNANDEZ. Op. Cit., p. 20

¹⁶¹ Ibid., p. 36

¹⁶² TORO, Natalia y SUÁREZ, Liseth. Obtención y caracterización del aceite de las semillas de *Vitis labrusca* L. (Uva Isabella) y evaluación de su actividad antioxidante [en línea]. Tesis de pregrado para optar al título de Químico Industrial. Universidad Tecnológica de Pereira, 2012. p. 63-64. [Consultado: 03 mayo 2019]. Disponible en: <http://recursosbiblioteca.utp.edu.co/tesis/textoyanexos/66029T686.pdf>

¹⁶³ DA COSTA, Paulo, *et al.* Phytosterols and tocopherols content of pulps and nuts of Brazilian fruits [en línea]. En: Food Research International. Julio, 2010, vol. 43, p. 1603. [Consultado: 04 febrero 2019]. ISSN: 0963-9969. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.04.025>

En la cromatografía de gases se utilizan tres tipos de inyección de muestras, estas son: split, split-less y on column. Siendo las dos primeras utilizadas para la vaporización (en una cámara destinada para este proceso) e inyección de la muestra. Sin embargo, el modo Split, envía una pequeña parte de la muestra hacia la columna, dejando una fracción por fuera del sistema cromatográfico. El segundo modo, envía la muestra en completo hacia la columna; siendo esta opción normalmente utilizada para muestras que poseen componentes muy volátiles o para análisis de trazas. Finalmente, el modo on column no posee la etapa de vaporización, por lo que la inyección se lleva a cabo en frío; resulta útil para el análisis de componentes muy sensibles a la temperatura¹⁶⁴.

1.7.2.1 Detectores. Corresponden a dispositivos que miden los compuestos en la corriente de la fase móvil o gas portador. Los detectores generan una señal, que es producto de la comparación entre el gas portador libre y el gas portador llevando un soluto(s) previamente separado(s) en la columna¹⁶⁵.

1.7.2.2 Detector de Ionización de llama (FID). Corresponde a uno de los instrumentos más utilizados en la cromatografía de gases, que posee selectividad hacia moléculas orgánicas (aquellas que presentan enlaces C-H), lo que le permite ser utilizado para el análisis de una amplia variedad de compuestos. Consiste en una llama de hidrógeno mezclada con aire, que se pone en contacto con la muestra después de que ésta sale de la columna, lo que genera iones y electrones que son captados por un electrodo colector, situado en la parte superior de la llama. El detector mide la corriente iónica producida en el proceso¹⁶⁶.

La señal generada por la quema de las sustancias orgánicas, es proporcional al contenido de átomos presente en la muestra analizada, por lo que este detector, se considera sensible a la masa más que a la concentración¹⁶⁷.

1.7.2.3 Espectrómetro de Masas. La utilización de este detector permite conocer la masa molecular de los compuestos analizados y su información estructural¹⁶⁸, esto se realiza mediante la medición de la masa propia de las moléculas que han sido convertidas a iones. La técnica consiste entonces, en la ionización de la muestra, esto se realiza normalmente mediante impacto electrónico (IE) en condiciones de vacío. En este proceso, un haz de electrones de elevada energía, choca las moléculas neutras de la muestra gaseosa, ocasionando la ionización y por lo tanto el desprendimiento de un electrón (la técnica genera habitualmente una carga residual positiva), el proceso también genera fragmentación de iones debido al exceso de energía. Luego, las especies cargadas son repelidas por una placa de carga positiva con el fin de desviarlas y expulsarlas de la corriente de electrones,

¹⁶⁴ GUTIERREZ. Op. Cit., p. 36

¹⁶⁵ TORO. OP. Cit., p. 65

¹⁶⁶ Ibid., p. 68

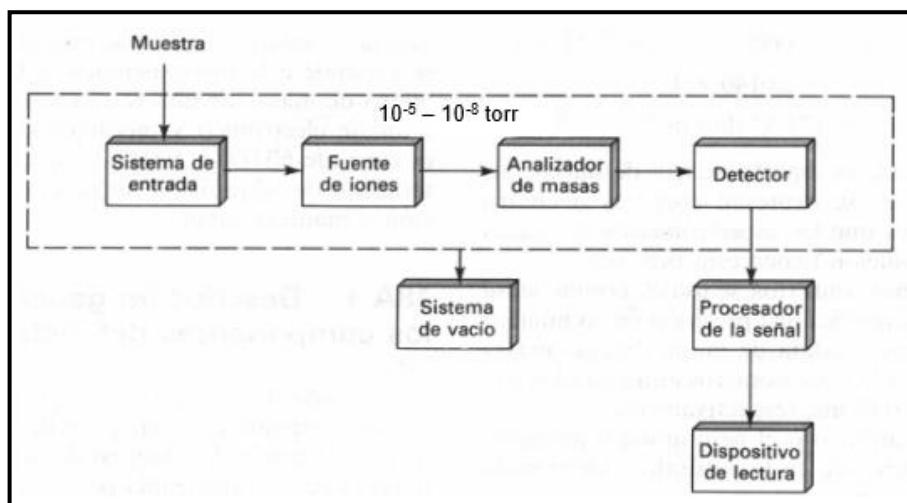
¹⁶⁷ ARIAS. Op. Cit., p. 29

¹⁶⁸ FERNANDEZ. Op. Cit., p. 22

posteriormente las partículas son atraídas hacia un colector por campos magnéticos o eléctricos, y separadas de acuerdo a su carga y masa. El espectrómetro mide la relación masa/carga (m/z) de los iones formados en el proceso¹⁶⁹.

De acuerdo a lo mencionado, un espectrómetro de masas está conformado por un sistema de entrada, de vacío, de señal y de lectura, una fuente de iones, un analizador de masas y un detector¹⁷⁰. Un esquema del equipo, se muestra a continuación:

Imagen 18. Esquema de un Espectrómetro de Masas.



Fuente: UNIVERSIDAD DE ALICANTE. Espectrometría de masas. En: RUA [sitio web]. Alicante: Repositorio Institucional RUA. [Consultado: 24 febrero 2019]. Archivo pdf. Disponible en: <https://rua.ua.es/dspace/bitstream/10045/8249/4/T5masas.pdf>

1.7.2.4 Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas (GC-MS).

En algunos análisis cualitativos mediante cromatografía, pueden existir sustancias que presentan comportamientos similares bajo las mismas condiciones, por lo que la comparación de éstas sustancias frente a las de un estándar se dificulta, en estas circunstancias, técnicas acopladas que combinan la separación de compuestos mediante cromatografía y la capacidad de identificación de analitos como espectroscopía de masas, resulta una de las mejores tecnologías para análisis cualitativo de muestras¹⁷¹.

¹⁶⁹ TORO. Op. Cit., p. 66.

¹⁷⁰ UNIVERSIDAD DE ALICANTE. Espectrometría de masas. En: RUA [sitio web]. Alicante: Repositorio Institucional RUA. [Consulta 24 febrero 2019]. Archivo pdf. Disponible en: <https://rua.ua.es/dspace/bitstream/10045/8249/4/T5masas.pdf>

¹⁷¹ GUTIÉRREZ. Op. Cit., p. 36

Una vez producida la separación de los compuestos en la columna cromatográfica, y por consiguiente, su respectiva elución. Los analitos se introducen de manera sucesiva al espectrómetro de masas, donde cada uno es identificado en función de su espectro de masas y registrado con la forma de un pico cromatográfico, que posee un área proporcional a la concentración del componente detectado¹⁷². El acoplamiento de estos dos instrumentos debe realizarse, asegurándose de que la presión atmosférica con la que salen los compuestos del cromatógrafo, se reduzca al vacío (alrededor de 10^{-5} torr) para la entrada al espectrómetro¹⁷³.

1.7.2.5 Derivatización en Cromatografía de Gases. La derivatización, corresponde a uno de los procedimientos previos a la cromatografía de gases, es utilizada para suministrar información adicional acerca de la identidad del compuesto que se analiza, facilitar la separación de moléculas que posean enantiomerismo mediante el alargamiento o disminución del tiempo de retención, y mejorar la detección del analito de interés utilizando reacciones de alquilación, acilación y siliación, siendo esta última, una de las más utilizadas en GC¹⁷⁴.

Algunos compuestos esteroidales o de naturaleza fitosterol, contienen en su estructura el grupo hidroxilo (OH), los cuales, sin aplicación de procesos de derivatización, generan picos ineficientes que disminuyen la sensibilidad y selectividad de detección¹⁷⁵, debido a esto, es necesario someter los compuestos a reacciones de siliación, en la cual el hidrógeno lábil del grupo hidroxilo, es reemplazado por un grupo trimetilsililo, lo cual genera productos de reacción más estables (térmicamente) y volátiles, facilitando la detección del analito¹⁷⁶.

¹⁷² Ibid., p. 37

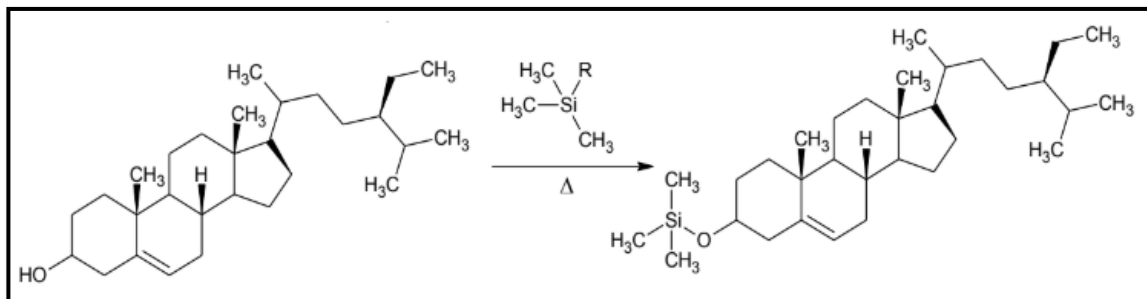
¹⁷³ LÓPEZ, Juan. Estandarización de la técnica de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas para la identificación y cuantificación de metilésteres de ácidos [en línea]. Trabajo de grado para optar al título de Tecnólogo Químico. Universidad Tecnológica de Pereira, 2008. p. 27. [Consultado: 29 mayo 2019]. Disponible en: <https://core.ac.uk/download/pdf/71395469.pdf>

¹⁷⁴ ARIAS. Op. Cit., p. 36

¹⁷⁵ Ibid., p. 37

¹⁷⁶ RODRIGUEZ, Jose, *et al.* Optimización de un método para determinación de fitoesteroles y escualeno en ácidos grasos destilados usando la metodología de superficie de respuesta y su validación [en línea]. En: Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas. Octubre – Diciembre, 2014, vol. 45, no. 4, p. 2. [Consultado: 04 febrero 2019] ISSN: 1870-0195. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-01952014000400005

Imagen 19. Reacción de la derivatización de un esteroles.



Fuente: ARIAS, Andrés y GIL, Diana. Estandarización de la técnica cromatografía de gases capilar para la identificación y cuantificación de fitoesteroles en semillas de *Luffa Cylindrica* [en línea]. Tesis de pregrado para optar al título de Químico Industrial. Universidad Tecnológica de Pereira, 2012. p. 37. [Consultado: 30 septiembre 2018]. Disponible en: <https://docplayer.es/68304332-Estandarizacion-de-la-tecnica-cromatografia-de-gases-capilar-para-la-identificacion-y-cuantificacion-de-fitoesteroles-en-semillas-de-luffa-cylindrica.html>

2. METODOLOGÍA

2.1 SELECCIÓN DE PARÁMETROS – TÉCNICAS DE EXTRACCIÓN

El MAE como se ha mencionado es una alternativa para la extracción que implica el calentamiento por microondas, su efecto depende en gran medida de la constante dieléctrica, los compuestos químicos y la naturaleza del disolvente; en los últimos años, esta técnica se ha utilizado para la extracción de diferentes materiales dentro de los que se incluyen semillas. En contraste, metodologías como la EUA, implican el uso de ondas de ultrasonido generadas por un baño de agua o una sonda ultrasónica que producen la ruptura celular de especies vegetales y facilitan la extracción de diversos compuestos por el fenómeno de la cavitación, esta tecnología es ampliamente útil en la realización de extracciones verdes y su aplicación resulta económicamente viable en áreas de alimentos y extractos naturales¹⁷⁷. Por otro lado, metodologías de extracción como Soxhlet, han sido técnicas estándar durante más de un siglo, actualmente siguen utilizándose para diversas investigaciones y los métodos basados en esta, siguen siendo los puntos de referencia frente a las cuales se mide el desempeño de las nuevas tecnologías¹⁷⁸. Debido a lo anterior, se seleccionaron estas tres técnicas de extracción para evaluar el rendimiento de aceite extraído de una fuente novedosa como lo es un residuo agroindustrial, utilizando solventes más limpios y ecológicamente amigables.

La selección de parámetros de las técnicas seleccionadas, se basa entonces en una búsqueda bibliográfica de diversos documentos, de modo que pueda conocerse y agruparse las condiciones de operación utilizadas en varios procesos extractivos. Algunos de los artículos que se presentarán en este capítulo, realizaron la evaluación de algunas condiciones de operación para la extracción de compuestos bioactivos, por lo cual los parámetros que se consignaron en la tablas siguientes, corresponden a las condiciones más favorables seleccionadas por los autores; otros documentos solo realizan experimentos extractivos con condiciones previamente establecidas, por lo cual también se consignaron los valores de los parámetros utilizados en la realización de los experimentos. Para los artículos en los cuales se utilizaba etanol, se presentaron las condiciones a las cuales se realizaron ensayos utilizando el disolvente mencionado. A continuación, se describen los artículos encontrados para cada método.

¹⁷⁷ CASTEJÓN, Natalia; LUNA, Pilar y SEÑORÁNS, Francisco J. Alternative oil extraction methods from *Echium plantagineum* L. seeds using advanced techniques and green solvents [en línea]. En: Food Chemistry. Abril, 2018, vol. 244, p. 75-82. [Consultado: 27 febrero 2019]. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.10.014>.

¹⁷⁸ DUQUE DE CASTRO, M.D y PRIEGO-CAPOTE, F. Soxhlet extraction: Past and present panacea [en línea]. En: Journal of Chromatography A. Abril, 2010, vol. 1217, p. 2383-2389. [Consultado: 04 febrero 2019]. DOI: 10.1016/j.chroma.2009.11.027.

2.1.1 Parámetros para la hidrodestilación asistida por microondas (MAHD).

Recientemente, ha aumentado el interés relacionado con las nuevas tecnologías, incluidos los nuevos métodos de extracción, por ello se han realizado varios estudios para explorar esta técnica dado que se han extraído de manera eficiente diferentes clases de compuestos, incluidos aromas, fenoles, pesticidas y especialmente aceites esenciales¹⁷⁹. Sin embargo, a pesar de las numerosas investigaciones sobre el MAHD, hasta ahora no hay ninguna información disponible acerca de este tratamiento para esta materia prima. Teniendo en cuenta esto, se consideraron las variables más relevantes para la extracción que influyen en el rendimiento del aceite como lo es el tiempo, la relación sólido / líquido y la potencia. Finalmente, los resultados obtenidos de la literatura se comparan para así seleccionar las condiciones de extracción óptimas que se van a utilizar para este estudio.

En el cuadro 3 se presentan algunos ejemplos del efecto del tratamiento térmico asistido por microondas, en donde se empleó como materia prima el fruto de aguacate más explícitamente el mesocarpio.

Cuadro 3. Condiciones de operación para el tratamiento térmico asistido por microondas realizadas en el fruto de aguacate.

#	Artículo		País/Año	Parámetros	Rango
	Título	Autor			
1	Propiedades físicas y químicas del aceite de aguacate obtenido de puré deshidratado por microondas	JIMÉNEZ, Ma Elena, <i>et al</i>	México	MASA (g)	100
				SOLVENTE	Éter de petróleo - Hexano
			2001	TIEMPO	1 h
				POTENCIA	Función de descongelamiento
2	Cambios en el perfil de ácidos grasos y microestructura de aguacate Hass tratado con microondas	DORANTES, Lidia, GUZMÁN, Gerónimo y I. Rosa	México	MASA (g)	20
				SOLVENTE	Hexano (1:5)
			2008	TIEMPO	30 - 60 s
				POTENCIA	700 W
3	Microwave processing of avocado: Volatile flavor profiling and olfactometry	DORANTES, Lidia, <i>et al</i>	México	MASA (g)	20
				SOLVENTE	Sin adición de disolvente o agua
			2008	TIEMPO	30 s
				POTENCIA	633 W

¹⁷⁹JEYARATNAM, Nitthiyah, et al. Essential oil from Cinnamomum cassia bark through hydrodistillation and advanced microwave assisted hydrodistillation [en línea]. *En: Industrial Crops & Products*. Diciembre, 2016, vol. 92, p. 57-66. [Consultado: 09 febrero 2019]. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.07.049>.

Cuadro 3. (Continuación).

#	Artículo		País/Año	Parámetros	Rango
	Título	Autor			
4	Effect of microwave treatment on enzyme inactivation and quality change of defatted avocado puree during storage	ZHOU, Linyan, <i>et al</i>	China	MASA (g)	100
				SOLVENTE	Sin adición de disolvente o agua
			2016	TIEMPO	80 s
				POTENCIA	11 W/g

Fuente: elaboración propia.

En el artículo No. 1, los autores JIMÉNEZ, Ma Elena, *et al*¹⁸⁰, realizaron la extracción de aceite de muestras deshidratadas por microondas y horno eléctrico, mediante reflujo de disolvente durante un periodo de tiempo de 6 horas, en un extractor Soxhlet, utilizando éter de petróleo y hexano. El secado por microondas se llevó a cabo a una potencia total de 1200 W durante un periodo de una hora con intervalos de tiempo de 15 minutos, obteniendo así un rendimiento de 87.5% con hexano y 82,5% con éter de petróleo. Por otro lado, para el secado mediante horno eléctrico, se utilizó una temperatura de 70 °C durante 12 horas, logrando un rendimiento del 80% utilizando hexano y un 76% utilizando éter de petróleo; donde se obtuvieron los mejores rendimientos para ambos métodos de secado utilizando hexano como disolvente. Además, se informa que la mayor estabilidad oxidativa proviene de las muestras deshidratadas con microondas, posiblemente debido a la inhibición de las enzimas de polifenoloxidasas que ocasionan reacciones de oscurecimiento y la lipasa que acelera las reacciones oxidativas. En el cual los resultados de la caracterización del aceite obtenido del aguacate tratado con microondas son análogos a los del aceite comercial y a los reportados en la literatura.

Por otro lado, en el artículo No. 2, DORANTES, Lidia; GUZMÁN, Gerónimo y I. Rosa¹⁸¹ evaluaron el efecto de este tratamiento en el perfil de ácidos grasos y microestructura en el puré de aguacate, encontrando que el ácido oleico (63.5%) es el componente mayoritario, seguido del ácido palmítico (18,7%), linoleico (8.67%) y palmitoleico (6.20%), lo que indica que el tratamiento con microondas tiene un efecto positivo en la calidad del producto. Además, los ácidos grasos *trans* no se producen, sin embargo, si hay cambios en la microestructura del puré de aguacate tratado con microondas. Las muestras irradiadas a una potencia de salida de 700 W durante tiempos menores de 40 s, conservaron la forma de las células, causando

¹⁸⁰ JIMÉNEZ, Ma Elena, *et al*. Propiedades físicas y químicas del aceite de aguacate obtenido de puré deshidratado por microondas [en línea]. *En*: Revista de la Sociedad Química de México. Abril, 2001, vol. 45, no. 2, p. 89-92. [Consultado: 09 febrero 2019]. Disponible en: <http://www.scielo.org.mx/pdf/rsqm/v45n2/v45n2a9.pdf>. ISSN: 0583-7693.

¹⁸¹ DORANTES, Lidia, GUZMÁN, Gerónimo y I. Rosa. Cambios en el perfil de ácidos grasos y microestructura de aguacate Hass tratado con microondas [en línea]. *En*: Archivos Latinoamericanos de nutrición. Septiembre, 2008, vol. 58, no. 3, p. 298-302. [Consultado: 17 febrero 2019]. Disponible en: http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222008000300013. ISSN: 0004-0622.

solo una modificación mínima. En cambio, cuando el puré es tratado con microondas a tiempos mayores de 60 s, se observaron áreas de rotura de las paredes y membranas celulares, liberando el aceite que contienen, de la misma manera que se produce mayor cantidad de compuestos volátiles procedentes de la oxidación de los lípidos, lo que podría afectar la propiedad sensorial de este producto.

En el documento No. 3, DORANTES, Lidia, *et al*¹⁸² estudiaron el efecto del tiempo de microondas, el pH y las hojas de este fruto, en el perfil volátil del aguacate utilizando la metodología de superficie de respuesta y el análisis de dilución de extracto de aroma (AEDA) para evaluar los cambios en la composición del olor. Los análisis de la superficie de respuesta mostraron valores máximos para compuestos volátiles derivados de la oxidación de lípidos a altos niveles de tiempo de microondas y bajos valores de pH. La condición óptima para preparar el puré de aguacate fue a una potencia de 633 W, con un tiempo de calentamiento de 30 s, pH de 5.5 y 1% de hojas. Demostrando que, mediante este tratamiento combinado, la pérdida de sabor se minimiza y da como resultado un producto con un sabor característico de esta fruta, de la misma manera que se obtiene una mejor retención de color y luminosidad, cuando se procesa el puré en un horno microondas.

Finalmente, ZHOU, Linyan, *et al*¹⁸³ en el artículo No. 4, evaluaron el efecto de las diferentes densidades de potencia (11, 7.7 y 4.4 W / g), aplicando el tratamiento con microondas (MW) para analizar la inactivación del polifenol oxidasa (PPO), la pectina metilesterasa (PME), así como cambios en la clorofila, en el contenido fenólico total y en la calidad sensorial, como el color y la reología, durante 4 semanas de almacenamiento a 4 °C. Observando que más del 80% de la PPO podía inactivarse en 80 s a 11 W / g, siendo estas condiciones en las que el contenido fenólico total aumentó en un 29,41% y se produjeron pérdidas insignificantes en el contenido de clorofila a y b. Además, durante el almacenamiento, la actividad de PME no se detectó, en cambio la actividad de PPO en las muestras no tratadas aumentó continuamente al 250%, mientras que, para las muestras tratadas con MW, la actividad de PPO se mantuvo constante alrededor del 20%. Probando que el tratamiento con microondas podría disminuir considerablemente la actividad de la PPO y ayudar a preservar la calidad sensorial y nutricional durante el almacenamiento a 4 °C.

¹⁸² DORANTES, Lidia, *et al*. Microwave processing of avocado: Volatile flavor profiling and olfactometry [en línea]. *En*: Innovative Food Science and Emerging Technologies. Mayo, 2008, vol. 9, no. 4, p. 501-506. [Consultado: 30 enero 2019]. DOI: 10.1016/j.ifset.2008.05.003.

¹⁸³ ZHOU, Linyan, *et al*. Effect of microwave treatment on enzyme inactivation and quality change of defatted avocado puree during storage [en línea]. *En*: Innovative Food Science and Emerging Technologies. Octubre, 2016, vol. 37, p. 61-67. [Consultado: 18 febrero 2019]. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ifset.2016.08.002>.

Al ser la semilla de aguacate una fuente de aceite poco utilizada, es fundamental establecer similitudes en relación con otras semillas oleaginosas que presenten características similares, es por esto que en el cuadro 4 se reúnen una serie de referencias bibliográficas, en cuanto a los estudios basados en la extracción de aceite de semillas, mediante tratamiento térmico asistido por microondas.

Cuadro 4. Condiciones de operación para la extracción de aceite de semillas oleaginosas usando tratamiento térmico asistido con microondas.

#	Artículo		País/Año	Parámetros	Rango
	Título	Autor			
5	El Proceso Asistido por Microondas (MAP™): aplicaciones para la extracción de aceite de palma	GARCIA, J. A.; PARÉ, J y BÉLANGER, J. M	Colombia	MASA (g)	4
				SOLVENTE	Etanol; Hexano (60 mL)
			2000	TIEMPO	120 s
				POTENCIA	125 W
6	Green procedure with a green solvent for fats and oils' determination Microwave-integrated Soxhlet using limonene followed by microwave Clevenger distillation	VIROT, Matthieu, <i>et al.</i>	Francia	MASA (g)	30
				SOLVENTE	D- Limoneno; Hexano (300 mL)
			2008	TIEMPO	13 min
				POTENCIA	720 W
7	Effect of pretreatment with microwaves on oxidative stability and nutraceuticals content of oil from rapeseed	AZADMARD, Sodeif, <i>et al.</i>	Irán	MASA (g)	100
				SOLVENTE	Hexano (300 mL)
			2010	TIEMPO	120 - 240s
				POTENCIA	800 W
8	Optimización de las variables de pretratamiento (microondas) en la extracción de aceite de canola	RAMOS, Luciana, <i>et al.</i>	Argentina	MASA (g)	45
				SOLVENTE	Hexano
			2014	TIEMPO	5 min
				POTENCIA	607 W
9	Oxidation stability and compositional characteristics of oils from microwave roasted pumpkin seeds during thermal oxidation	ABBAS, M, <i>et al.</i>	Malasia	MASA (g)	20
				SOLVENTE	Hexano
			2017	TIEMPO	12 min
				POTENCIA	510 W

Cuadro 4. (Continuación).

#	Artículo		País/Año	Parámetros	Rango
	Título	Autor			
10	Improvement of supercritical CO ₂ and n-hexane extraction of wild growing pomegranate seed oil by microwave pretreatment	ĐURĐEVIĆ, Sanja, <i>et al.</i>	Serbia	MASA (g)	20
				SOLVENTE	Hexano (250 mL)
			2017	TIEMPO	6 min
				POTENCIA	600 W
11	Effects of heat treatment under low moisture conditions on the protein and oil in soybean seeds	MIZUTANI, Yukiko, <i>et al.</i>	Japón	MASA (g)	40
				SOLVENTE	No reporta
			2019	TIEMPO	10 s
				POTENCIA	500 W

Fuente: elaboración propia.

De acuerdo a lo anterior, los autores GARCIA, J; PARÉ, J.R y BÉLANGER, J. M¹⁸⁴. En el artículo No. 5, estudiaron la posibilidad de utilizar los procesos asistidos por Microondas (MAP), para la extracción de aceite de palma, usando una potencia de 125 W, durante 120 s, comparada con el método tradicional de Soxhlet. En el que se usa una relación muestra: solvente (M: S) equivalente a 1:15, empleando como solvente el hexano y agregando 2 mL de etanol como modificador. Encontrando que los valores son prácticamente los mismos; siendo los promedios registrados para el aceite en el orden de 6,79% usando la metodología de Soxhlet y usando la determinación con MAP, 6,56% con una desviación estándar relativa (rsd) de 4,23 y 3,65%, respectivamente. Por otro lado, se evidenció que se obtienen mayores rendimientos de aceite, cuando se aplica mayor potencia. Además, cuando se usa como disolvente etanol para MAP, se obtienen mayores rendimientos de aceite comparados con los de referencia usando Soxhlet. De igual forma, se obtienen mejores resultados cuando se emplea etanol para Soxhlet que utilizando hexano, presentando un color más oscuro.

Mientras en el estudio que realizan VIROT, Matthieu., *et al*¹⁸⁵ en el artículo No. 6, se describe un procedimiento alternativo verde, para la determinación de aceites y grasas de semillas de olivo, en el que se usa una extracción Soxhlet integrada con microondas, utilizando como disolvente D-limoneno, seguido de una destilación Clevenger para la eliminación del solvente. Las condiciones de operación fueron

¹⁸⁴ GARCIA, J, PARÉ, J.R y BÉLANGER, J. M. The Microwave Assisted Process (MAP™)1: Applications to the extraction of palm oil [en línea]. En: Palmas. 2000, vol. 21, p. 371-384. [Consultado: 18 febrero 2019]. Disponible en: <https://publicaciones.fedepalma.org/index.php/palmas/article/download/854/854/>

¹⁸⁵ VIROT, Matthieu, *et al.* Green procedure with a green solvent for fats and oils' determination Microwave-integrated Soxhlet using limonene followed by microwave Clevenger distillation [en línea]. En: Journal of Chromatography A. Julio, 2008, vol. 1196-1197, p. 147-152. [Consultado: 11 febrero 2019]. DOI: 10.1016/j.chroma.2008.04.035.

720 W para la potencia de irradiación, 13 minutos para el tiempo de extracción y una relación soluto: solvente (1:10), obteniendo un rendimiento del 44.9% que comparadas con las extracciones soxhlet convencionales realizadas con n-hexano (40.3%), no se obtuvieron diferencias significativas en términos de determinación cualitativa y cuantitativa.

Por otro lado, en el artículo No. 7, AZADMARD, Sodeif, *et al*¹⁸⁶ estudiaron el efecto del pretratamiento de microondas sobre el rendimiento de extracción de aceite de canola, su actividad oxidativa y su contenido de nutraceuticos. Según el documento, la canola se trató previamente con microondas durante dos tiempos (2 minutos y 4 minutos) y luego se extrajo el aceite con una prensa. Sin embargo, para comparar los resultados, también se extrajo aceite de canola no tratada con disolvente y prensa. Los resultados mostraron que el aceite extraído con disolvente tenía el mayor contenido de fitosterol. Asimismo, se observó que aumentar el tiempo de tratamiento con microondas puede aumentar el rendimiento de extracción del aceite (en un 10%), los fitoesteroles (en un 15%) y los tocoferoles (en un 55%) extraídos por presión. Además, se encontró que el aceite extraído de canola no tratada por presión tuvo la estabilidad oxidativa más baja (1 h); esto se incrementó a 8 h mediante el tratamiento previo de la canola con microondas. Por lo tanto, a partir de los resultados obtenidos, los autores sugieren tratar la canola con microondas (800 W) antes de la extracción de aceite con una prensa, ya que proporciona una recuperación relativamente buena de aceite, con una gran cantidad de nutraceuticos, y puede producir aceite con una vida útil más larga.

En contraste, RAMOS, Luciana *et al*¹⁸⁷ en el artículo No. 8, investigaron la optimización de las variables de pretratamiento (microondas) en la extracción de aceite de canola, donde las semillas tratadas como sin tratar se sometieron con antelación a una molienda para luego ser irradiadas a una potencia de 457 W y 607 W, con tiempos de 4,2 y 5,0 minutos y una humedad de 5,2 y 5,7% b.s. Aplicaron, la metodología de superficie de respuesta para el análisis de las variables (humedad inicial del grano y tiempo de tratamiento para microondas). Posteriormente, usando una extracción soxhlet, durante 4 h y como disolvente (n-hexano), obtuvieron un rendimiento de aceite más alto (50,9 % b.s.) con el tratamiento previo de 607 W, en comparación con (48,5 b.s.) aplicando una potencia de 457 W. En el que el rendimiento disminuyó a mayor humedad inicial de la muestra. Sin embargo, no se ven afectados los índices de calidad del aceite o se encuentran diferencias significativas en el contenido de tocoferoles entre las muestras tratadas o sin tratar.

¹⁸⁶ AZADMARD, Sodeif, *et al*. Effect of pretreatment with microwaves on oxidative stability and nutraceuticals content of oil from rapeseed [en línea]. *En*: Food Chemistry. Agosto, 2010, vol. 121, no. 4, p. 1211-1215. [Consultado: 04 marzo 2019]. DOI: 10.1016/j.foodchem.2010.02.006.

¹⁸⁷ RAMOS, Luciana, *et al*. Optimización de las variables de pretratamiento (microondas) en la extracción de aceite de canola [en línea]. *En*: AMADO, Jorge y FITO, Pedro. International Conference on Food Innovation Food Innova. Tercera edición. Concordia (Argentina): UNER, 2014. p. 85-95. [Consultado: 30 marzo 2019]. Disponible en: <https://eduner.uner.edu.ar/public/ebooks/-international-conference-on-food-innovation-foodinnova-2014.154637101908.pdf>. ISBN 978-950-698-379-6.

Aunque, se observa una disminución en el índice de peróxidos tratado a la máxima potencia.

El artículo No. 9, corresponde al estudio que llevan a cabo ABBAS, M, *et al*¹⁸⁸, en el cual se investigó el efecto del tratamiento por microondas antes de la extracción de aceite sobre la estabilidad oxidativa, la composición de ácidos grasos y las especies de triacilglicerol de los aceites de semilla de calabaza. Notando que las semillas tratadas fueron las más resistentes a la formación de productos de oxidación de lípidos. Además, los contenidos de ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) se redujeron a 97%, y los ácidos grasos saturados (SFA) se incrementaron a 102.6% en muestras tratadas (510 W durante 12 minutos), después de 9 h de calentamiento. En comparación, con las muestras no tratadas en donde los contenidos de PUFA se redujeron a 84.7% y los SFA se incrementaron a 119.5% después de 9 h de calentamiento. Lo que reveló que el tratamiento previo con microondas modificó significativamente la composición, el rendimiento (38.3%) y mejoró notablemente la estabilidad oxidativa de los aceites durante el calentamiento.

Posteriormente, en la investigación de ĐURĐEVIĆ, Sanja, *et al*¹⁸⁹ (artículo No. 10) sugirieron también la radiación de microondas como técnica de pretratamiento para aumentar el rendimiento del aceite en la semilla de granada. Las semillas se pretrataron a 100, 250 y 600 W durante 2 y 6 minutos y luego se extrajeron con dióxido de carbono supercrítico (scCO₂) en una unidad de alta presión, así como con n-hexano en el aparato Soxhlet. Incluso en el nivel más bajo de microondas, los parámetros aplicados (100 W durante 2 min) aumentaron el rendimiento del aceite de semilla obtenido por ambas técnicas de extracción en comparación con las semillas no tratadas. El rendimiento máximo de aceite en la extracción Soxhlet (36.3%) se obtuvo con una radiación de microondas de 600 W durante 6 min, mientras que para la extracción de scCO₂ el rendimiento máximo de aceite (27.2%) fue de 250 W durante un tratamiento previo de radiación de microondas de 6 min. La composición cualitativa y cuantitativa de los ácidos grasos de los aceites obtenidos se determinó mediante GC-FID y GC/MS. El ácido punícico fue el ácido graso más abundante en el aceite de semilla de granada (> 60%). Lo que demostró que el tratamiento con microondas de las semillas de granada antes de la extracción aumenta el rendimiento de aceite sin un efecto negativo en la composición de los ácidos grasos.

¹⁸⁸ ABBAS, M, *et al*. Oxidation stability and compositional characteristics of oils from microwave roasted pumpkin seeds during thermal oxidation [en línea]. *En*: International Journal of Food Properties. Marzo, 2017, vol. 20, no. 11, p. 2569-2580. [Consultado: 04 marzo 2019]. Disponible en: <https://doi.org/1080/10942912.2016.1244544>

¹⁸⁹ ĐURĐEVIĆ, Sanja, *et al*. Improvement of supercritical CO₂ and n-hexane extraction of wild growing pomegranate seed oil by microwave pretreatment [en línea]. *En*: Industrial Crops & Products. Octubre, 2017, vol. 104, p. 21-27. [Consultado: 09 febrero 2019]. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.04.024>.

Por último, en el artículo No. 11, MIZUTANI, Yukiko, *et al*¹⁹⁰ investigaron los efectos del autoclave y el calentamiento por microondas sobre la proteína y el aceite en las semillas de soja en condiciones de baja humedad. En donde el índice de solubilidad del nitrógeno (NSI) disminuyó con el calentamiento, reducción que estuvo acompañada por un aumento el tamaño y la deformación de los cuerpos oleosos en el tejido celular de las semillas. Por otro parte, el análisis de electroforesis en gel de dodecil sulfato de sodio y poliacrilamida (SDS-PAGE), reveló que la lipoxigenasa era susceptible a la desnaturalización por calor, pero las globulinas 7S y 11S solo se desnaturalizaron parcialmente. Posteriormente, mediante las mediciones de espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (FT-IR) se confirmó la desnaturalización parcial de las proteínas. En base a estos resultados, los autores indican que el calentamiento por microondas (500 W durante 10 s) es más eficiente para cambiar la distribución de aceite en las semillas y que, por otro lado, el grado de desnaturalización de la proteína es menor que por el calentamiento por autoclave.

De acuerdo con lo anterior, para profundizar y hacer una selección adecuada de las condiciones de operación, fue esencial tomar como referencia artículos en los que se utilice la hidrodestilación asistida con microondas, ya que este es el tipo de configuración que se va a utilizar para este estudio y teniendo en cuenta que en la mayoría de los estudios que se revisaron previamente, esta técnica se ha utilizado como pretratamiento, pero no como método de extracción, siendo importante para establecer la relación entre el tiempo y la potencia de irradiación. Los artículos se enumeran a continuación:

Cuadro 5. Condiciones de operación para la extracción de aceite utilizando hidrodestilación asistida por microondas.

#	Artículo		Pais/Año	Parámetros	Rango
	Título	Autor			
12	A novel approach for isolation of essential oil from fresh leaves of <i>Magnolia sieboldii</i> using microwave-assisted simultaneous distillation and extraction	CHEN, Felgli; ZU, Yuangang y YANG, Lei.	China	MASA (g)	19 mL/g
				SOLVENTE	Éter etílico
			2015	TIEMPO	33 min
				POTENCIA	550 W
13	Essential oil from <i>Cinnamomum cassia</i> bark through hydrodistillation and advanced microwave assisted hydrodistillation	JEYARATNAM, Nitthiyah, <i>et al.</i>	Malasia	MASA (g)	25 (8:1 p/p)
				SOLVENTE	Agua destilada
			2016	TIEMPO	90 min
				POTENCIA	250 W

¹⁹⁰ MIZUTANI, Yukiko, *et al.* Effects of heat treatment under low moisture conditions on the protein and oil in soybean seeds [en línea]. *En: Food Chemistry*. Marzo, 2019, vol. 275, p. 577-584. [Consultado: 27 marzo 2019]. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.09.139>.

Cuadro 5. (Continuación).

#	Artículo		País/Año	Parámetros	Rango
	Título	Autor			
14	Microwave assisted hydro-distillation of essential oils from wet citrus peel waste	BUSTAMANTE, Julen, <i>et al</i>	UK	MASA (g)	100
				SOLVENTE	Agua desionizada (1 L)
			2016	TIEMPO	5 min; 15 min
				POTENCIA	785 W; 250 W
15	Coaxial microwave assisted hydrodistillation of essential oils from five different herbs (lavender, rosemary, sage, fennel seeds and clove buds): Chemical composition and thermal analysis	GONZÁLEZ, José, <i>et al</i>	Italia	MASA (g)	100 - Relación (W/ S) 5:1
				SOLVENTE	Agua desionizada (500 mL)
			2016	TIEMPO	30 - 120 min
				POTENCIA	300 W
16	Microwave-assisted Hydrodistillation for Extraction of Essential Oil from Patchouli (<i>Pogostemon cablin</i>) Leaves	KUSUMA, H. S. y MAHFUD, M.	Indonesia	MASA (g)	20
				SOLVENTE	Agua desionizada (400 mL)
			2017	TIEMPO	126 min
				POTENCIA	600 W
17	Kinetic studies on extraction of essential oil from sandalwood (<i>Santalum album</i>) by microwave air-hydrodistillation method	KUSUMA, H. S. y MAHFUD, M.	Indonesia	MASA (g)	20
				SOLVENTE	400 mL (1:20)
			2017	TIEMPO	120 min
				POTENCIA	600 W
18	Parameter optimization in microwave-assisted distillation of frankincense essential oil	TURK, Mohammad, <i>et al</i>	Francia	MASA (g)	1:5 (p/p)
				SOLVENTE	Agua destilada
			2018	TIEMPO	48 min
				POTENCIA	2 W/g

Fuente: elaboración propia.

En el artículo No.12, CHEN, Felgli; ZU, Yuangang y YANG, Lei¹⁹¹, desarrollaron un enfoque novedoso para aislar el aceite esencial de las hojas frescas de *Magnolia sieboldii*, utilizando la destilación y extracción simultáneas asistidas por microondas

¹⁹¹ CHEN, Felgli, ZU, Yuangang y YANG, Lei. A novel approach for isolation of essential oil from fresh leaves of *Magnolia sieboldii* using microwave-assisted simultaneous distillation and extraction [en línea]. *En: Separation and Purification Technology*. Septiembre, 2015, vol. 154, p. 271-280. [Consultado: 09 febrero 2019]. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.seppur.2015.09.066>.

(MSDE). La cual fue comparada con los métodos tradicionales como, hidrodestilación convencional (HD) en términos de cinética, composición química del aceite esencial y efecto económico. Donde para optimizar los parámetros del MSDE evaluaron la relación líquido-sólido, el tiempo y la potencia de irradiación. Encontrando que el método propuesto produjo un mayor rendimiento de aceite esencial ($0.94 \pm 0.05\%$) en un tiempo más corto (33 minutos) a una potencia de irradiación de 550 W, lo que causó un menor impacto ambiental y económico. Además, el aceite esencial producido por este método no produjo cambios sustanciales en su composición química a través de la cromatografía de gases y el análisis por espectrometría de masas.

Por otro lado, en el artículo No. 13, JEYARATNAM, Nitthiyah, *et al*¹⁹² extrajeron aceites volátiles de la corteza de *Cinnamomum cassia*, mediante métodos de MAHD y HD. Donde los efectos del tratamiento previo y los cambios morfológicos antes y después de la extracción se observaron a través de la microscopía electrónica de barrido (SEM), que reveló que la extracción a través de MAHD fue más eficiente sin una ruptura destructiva observable de la glándula del aceite. Además, el análisis de espectrometría infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) mostró que todos los compuestos presentes en el aceite de la corteza de *Cinnamomum cassia* extraído a través de HD también estaban presentes en el MAHD. Por otra parte, el análisis de la composición que se realizó mediante una cromatografía de gases: espectrofotometría de masas (GC – MS) reveló que el MAHD produce un 9% más de compuestos oxigenados que la HD, utilizando un nivel de potencia de microondas de 250 W durante aproximadamente 90 minutos. Por lo tanto, se encontró que la técnica MAHD es mucho más rentable y respetuosa con el medio ambiente, lo que reduce la emisión de dióxido de carbono en un 59%.

Mientras que, en el artículo No. 14, BUSTAMANTE, Julen, *et al*¹⁹³ estudiaron una técnica alternativa basada en MAHD para extraer con éxito el aceite esencial presente en los residuos de cáscaras de cítricos, en el que las condiciones óptimas se determinaron de la siguiente manera: un primer paso donde la biomasa se mezcla con agua relación (1:1.5) y dos pasos subsiguientes usando diferentes potencias de irradiación 785 W durante 5 minutos, seguido de 250 W durante 15 minutos, manteniendo siempre una presión constante de 300 mbar. En donde el rendimiento del aceite esencial obtenido en las naranjas por MAHD fue mayor ($1.8 \pm 0.1\%$ b.s) comparado con el obtenido por hidrodestilación convencional ($1.7 \pm 0.1\%$; b.s). Donde la aplicabilidad de esta metodología se probó con éxito en otras variedades de naranjas y cítricos, lo que permite la posibilidad de aplicar MAHD con otras materias primas de desecho.

¹⁹² JEYARATNAM, Op. cit., p. 57-66

¹⁹³ BUSTAMANTE, Julen, *et al*. Microwave assisted hydro-distillation of essential oils from wet citrus peel waste. [en línea]. *En: Journal of Cleaner Production*. Noviembre, 2016, vol. 137, p. 598-605. [Consultado: 09 febrero 2019]. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jclepro.2016.07.108>.

En el artículo No. 15, GONZÁLEZ, José, *et al*¹⁹⁴ aislaron aceites esenciales de cinco hierbas diferentes utilizando un dispositivo tipo Clevenger con asistencia de microondas, las cuales se aplican por medio de una antena coaxial y por hidrodestilación convencional (HD). Donde el análisis del comportamiento térmico y la estabilidad del aceite esencial (OE) se realizaron mediante termogravimetría (TG) y termogravimetría acoplada a espectrometría infrarroja (TG-FTIR), lo cual mostró que el comportamiento térmico de OE se describe por la volatilización de sus compuestos principales y que no se produce degradación térmica. El EO más volátil fue el romero, mientras que el EO de clavo mostró la mayor estabilidad térmica. En el que los diversos tipos de sustratos obtuvieron una alta concentración de monoterpenos oxigenados, utilizando 500 W de potencia con tiempos de extracción de 30 minutos para el romero y la salvia, mientras que para las semillas secas (hinojo y clavo) fue de 120 minutos, lo que hace que MAHD sea una tecnología deseable con una ampliación prometedora en el desarrollo de la extracción verde sólido-líquido.

Por otra parte, en el artículo No. 16, KUSUMA, H. S. y MAHFUD, M¹⁹⁵, optimizaron un método para el aislamiento de aceites esenciales de hojas de pachulí, que es uno de los materiales de base utilizados en perfumería y cosmética. Donde el método MAHD ofrece importantes ventajas sobre HD, menor tiempo de extracción (126 min vs. 417 min para HD); mejores rendimientos (2.7227% v/w vs. 2.6132 v/w para HD) y proporciona un aceite esencial (EO) más valioso (con altas cantidades de compuestos oxigenados). Utilizando una relación soluto/solvente 1:20, irradiación de 600 W (75% de potencia) durante 126 minutos. Según estos resultados, el MAHD puede denominarse como métodos de extracción "verdes" desde el punto de vista del consumo de energía.

En el artículo No. 17¹⁹⁶, estos mismos autores examinaron el efecto de la presencia y ausencia de flujo de aire adicional al método de hidrodestilación por microondas, para extraer aceite esencial de sándalo. Las extracciones se realizaron con una potencia de 600 W; la proporción de la materia prima a extraer y el disolvente fue de 0.05 g mL⁻¹ y el tiempo de extracción de 120 minutos. Las velocidades de flujo de aire utilizadas fueron 0.1, 0.5, 1.5, 3.0 y 5.0 L / min. Los resultados de la investigación muestran que la extracción de aceite de sándalo con flujo de aire es más rápida, produce mayores rendimientos (1.3170% con un caudal de 5.0 L /min).

¹⁹⁴ GONZÁLEZ, José, *et al*. Coaxial microwave assisted hydrodistillation of essential oils from five different herbs (lavender, rosemary, sage, fennel seeds and clove buds): Chemical composition and thermal analysis. [en línea]. En: Innovative Food Science and Emerging Technologies. Febrero, 2016, vol. 33, p. 308-318. [Consultado: 17 marzo 2019]. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ifset.2015.12.011>.

¹⁹⁵ KUSUMA, H. S. y MAHFUD, M. Microwave-assisted Hydrodistillation for Extraction of Essential Oil from Patchouli (*Pogostemon cablin*) Leaves [en línea]. En: Periodica Polytechnica Chemical Engineering. 2017, vol. 61, no. 2, p. 82-92. [Consultado: 18 marzo 2019]. Disponible en: <https://doi.org/10.3311/PPch.8676>.

¹⁹⁶ KUSUMA, H. S. y MAHFUD, M. Kinetic studies on extraction of essential oil from sandalwood (*Santalum album*) by microwave air-hydrodistillation method [en línea]. En: Alexandria Engineering Journal. Julio, 2018, vol. 57, no. 2, p. 1163-1172. [Consultado: 09 febrero 2019]. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.aej.2017.02.007>.

La prueba de las propiedades físicas del aceite de sándalo indica que el aceite esencial obtenido para ambos métodos tiene la misma calidad (índice de refracción y gravedad específica). Además, la prueba de las propiedades químicas del aceite muestra que la hidrodestilación asistida por microondas con presencia de flujo de aire tiene una mejor calidad (sabor).

En contraste el estudio realizado por TURK, Mohammad, *et al*¹⁹⁷ (artículo No. 18) se compara la destilación asistida con microondas (MAD) con el método convencional de hidrodestilación (HD) a diferentes densidades de potencia. Los resultados mostraron que la extracción por microondas puede resultar en una reducción sustancial (48 minutos contra 180 minutos como referencia) del tiempo cuando se aplica una potencia de 2 W / g. Además, la energía consumida por el nuevo proceso es 2,7 veces menor que la HD. Los resultados mostraron que la actividad antioxidante de la OE podría mejorarse dependiendo de los parámetros de tratamiento de MW, debido a que se requiere una disminución del 26,5% en el aceite extraído por MAD a 1 W / g para lograr una inhibición del 50% del radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) en comparación con la HD, lo que sugiere una posible degradación de la actividad antioxidante relacionada con la degradación térmica de las moléculas responsables de esta actividad debido al alto poder de calentamiento.

2.1.2 Parámetros para la extracción asistida por ultrasonido. Se ha demostrado que la utilización de ultrasonido es una herramienta importante para el proceso extractivo de compuestos (bioactivos) de plantas, frutas, hongos, entre otras especies, las ondas ultrasónicas favorecen la ruptura de la pared celular de la muestra, facilitando la penetración del disolvente y mejorando la transferencia de masa en el proceso¹⁹⁸. Para la selección de las condiciones de operación, fue necesario consultar de manera previa, las características del equipo disponible para la extracción, de modo que el rastreo bibliográfico fuera próximo a las condiciones actuales de experimentación. El equipo disponible para realizar la extracción de aceite a partir de semillas de aguacate corresponde entonces, a un baño ultrasónico marca WiseClean con frecuencia de 40kHz y salida ultrasónica de 150 W.

Para la búsqueda bibliográfica, se tomaron como referencia artículos científicos de países como Brasil, España, Indonesia, Colombia, entre otros; en este rastreo, se filtraron y utilizaron los documentos relacionados con la obtención de aceite utilizando la metodología de extracción mencionada; debido a que la información sobre semillas de aguacate de la variedad *Persea americana* es escasa, fue

¹⁹⁷ TURK, Mohammad, *et al*. Parameter optimization in microwave-assisted distillation of frankincense essential oil [en línea]. *En: Comptes Rendus Chimie*. Junio, 2018, vol. 21, no. 6, p. 622-627. [Consultado: 09 febrero 2019]. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.crci.2018.03.001>.

¹⁹⁸ LAVILLA, Isela y BENDICHO, Carlos. *Fundamentals of Ultrasound – Assisted Extraction* [en línea]. *En: DOMINGUEZ H. y GONZÁLEZ. M. Water Extraction of Bioactive Compounds*. Amsterdam, (Netherlands): Elsevier, 2017. p. 291-316. [Consultado 9 marzo 2019]. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809380-1.00011-5>. ISBN: 978-0-12-809380-1

necesario consultar los procesos extractivos de aceite en la pulpa del fruto, en otras semillas oleaginosas y especies vegetales.

A continuación, en el cuadro 6, se presenta la compilación de artículos en los cuales se realiza extracción con baño ultrasónico utilizando el fruto y semilla de aguacate pertenecientes al género *Persea*. Sin embargo, como se mencionó anteriormente, fue relevante reunir otros recursos bibliográficos relacionados con la extracción de aceite de especies oleaginosas que utilizan también esta metodología de extracción, estos documentos se mencionarán más adelante.

Cuadro 6. Listado de artículos sobre extracciones utilizando ultrasonido en fruto y semilla de aguacate pertenecientes al género *Persea*.

#	Artículo		País/Año	Parámetros	Rango
	Título	Autor			
19	The preliminary study of the dye extraction from the avocado seed using ultrasonic assisted extraction	ARLENE, Ariestya, <i>et al.</i>	Indonesia	RELACIÓN MUESTRA/SOLVENTE	1:12
				SOLVENTE	Metanol
				FRECUENCIA	37 kHz
			2015	TEMPERATURA	70°C
				TIEMPO	20 min
20	Avocado seed: Modeling extraction of bioactive compounds	SEGOVIA, F.J., CORRAL-PÉREZ, J.J. y ALMAJANO, M.P.	España	RELACIÓN MUESTRA/SOLVENTE	1:62,5
				SOLVENTE	Agua
				FRECUENCIA	40 kHz
			2016	TEMPERATURA	60°C
				TIEMPO	-
21	Exploration of avocado by-products as natural sources of bioactive compounds	TREMOCOLDI, María, <i>et al.</i>	Brasil	RELACIÓN MUESTRA/SOLVENTE	1:10
				SOLVENTE	Etanol: Agua
				FRECUENCIA	40 kHz
			2018	TEMPERATURA	25°C
				TIEMPO	15 min
22	Fatty acid profile and elemental content of avocado (<i>Persea americana</i> Mill.) oil –effect of extraction methods	REDDY, Mageshni, MOODLEY, Roshila y JONNALAGADDA, Sreekanth B	Sur Africa	RELACIÓN MUESTRA/SOLVENTE	1:10
				SOLVENTE	Hexano
				FRECUENCIA	-
			2012	TEMPERATURA	60°C
				TIEMPO	1 h

Cuadro 6. (Continuación)

#	Artículo		País/Año	Parámetros	Rango
	Título	Autor			
23	Optimization of ultrasound-assisted aqueous extraction to produce virgin avocado oil with low free fatty acids	TAN, Chin Xuan, <i>et al.</i>	Malasia	RELACIÓN MUESTRA/SOLVENTE	1:6
				SOLVENTE	Agua
				FRECUENCIA	40 kHz
			2017	TEMPERATURA	35°C
			TIEMPO	30 min	

Fuente: elaboración propia

A continuación, se exhibe la contextualización de los artículos seleccionados, respecto a la implementación de ultrasonido en muestras del género *Persea*:

El artículo No. 19, realizado por ARLENE, Ariestya, *et al.*¹⁹⁹ Consiste en una investigación de la influencia de la temperatura y la proporción muestra: solvente (M: S) en el rendimiento de extracción por ultrasonido de colorante natural y contenido fenólico a partir de las semillas de *Persea americana Mill*; para el proceso extractivo se empleó un baño ultrasónico con una frecuencia de 37 kHz y un periodo de 20 min utilizando metanol como solvente. Las condiciones de evaluación fueron las siguientes: temperaturas de 30°, 40°, 50°, 60° y 70°C y proporciones muestra: solvente de 1:3; 1:6; 1:9; 1:12 y 1:15 %p/p. Los autores mencionan que para el diseño de experimentos realizado, la temperatura de extracción y la relación M:S no afectan el rendimiento, el contenido fenólico o la intensidad de color del extracto, sin embargo si existe una relación entre éstas dos variables (Temperatura y relación M:S), pese a lo anterior, en el documento se reporta que el mayor rendimiento obtenido corresponde a 22.56% utilizando una relación M:S equivalente a 1:12 y una temperatura de 70°C; mientras que el máximo contenido fenólico (314,38 mg de equivalentes de ácido gálico GAE/g) y la intensidad de color, se presentaron a una temperatura de 40°C y una proporción M:S diferente. El artículo especifica que incrementos en la temperatura disminuyen la viscosidad y la tensión superficial del disolvente en el proceso extractivo, lo anterior facilita la formación de burbujas de cavitación que permiten la penetración en el sólido de muestra.

El artículo No. 20, realizado por SEGOVIA, F.J., CORRAL-PÉREZ, J.J. y ALMAJANO, M. P²⁰⁰, se fundamenta en la evaluación del efecto de la temperatura y potencia de ultrasonido en la extracción de polifenoles de la semilla de aguacate

¹⁹⁹ ARLENE, Ariestya, *et al.* The Preliminary Study of The Dye Extraction from The Avocado Seed Using Ultrasonic Assisted Extraction [en línea]. En: Procedia Chemistry. Diciembre, 2015, vol. 16. p. 334-340. [Consultado: 9 marzo 2019]. ISSN: 1876-6196. DOI: 10.1016/j.proche.2015.12.061

²⁰⁰ SEGOVIA, F.J., CORRAL-PÉREZ, J.J. y AL SEGOVIA, F.J., CORRAL-PÉREZ, J. J. y ALMAJANO, M.P. Avocado seed: Modeling extraction of bioactive compounds [en línea]. En: Industrial Crops & Products. Marzo, 2016, vol. 85. p. 213-220. [Consultado 9 marzo 2019]. ISSN: 0926-6690. DOI: 10.1016/j.indcrop.2016.03.005

Persea gratissima. Las semillas utilizadas poseían un diámetro de partícula promedio de 2.19 mm antes de realizar la extracción. Para la obtención de polifenoles se realizaron dos metodologías: 1) Extracción batch (ultrasound-assisted batch extraction UABE) empleando un baño ultrasónico que posee una potencia máxima de 130 W, una frecuencia de 40kHz, utilizando agua como solvente verde y una relación M:S de 1:62,5; para este procedimiento se evaluaron las siguientes variables: temperaturas de 20°, 40° y 60° C y potencias de 0%, 40% y 80%; 2) Extracción continua (ultrasound-assisted continuous extraction UACE), compuesta por una columna extractiva sumergida en un baño ultrasónico a las mismas condiciones mencionadas, y asistida por un bombeo continuo de agua fresca a través de la columna (4.17 mL/min). Para los dos modos de extracción se determinó el mejor ajuste de la cinética de extracción encontrando que el equilibrio extractivo es alcanzado en menos de una hora para el primer modo de extracción si se utiliza una temperatura de 60°C. El artículo menciona que para la extracción UABE, existe una relación directamente proporcional entre la potencia del ultrasonido y la extracción de polifenoles, a 60°C utilizando potencias de 40% y 80%, se muestran efectos ultrasónicos de 125% y 208% respectivamente. Para la extracción UACE se menciona que la concentración de polifenoles es función del tiempo, donde el contenido total de polifenoles (CTP) de los extractos, disminuye en la primera etapa de extracción conforme aumenta el tiempo, sin embargo, después de los 50 minutos, el CTP alcanza un equilibrio. Los autores concluyen que incrementos en la temperatura y potencia de extracción, repercuten en extractos con alto contenido de polifenoles y capacidad antioxidante y que las mejores condiciones de extracción para UABE corresponden a una potencia de 80% y una temperatura de 60°C.

En el artículo No. 21, los autores TREMOCOLDI, María, *et al.*²⁰¹. Realizan una evaluación de las propiedades antioxidantes, anti-inflamatorias y la composición fenólica de residuos agroindustriales, específicamente semillas y cáscaras de aguacate de las variedades Hass y Fuerte. La extracción de los compuestos bioactivos se llevó a cabo utilizando un baño ultrasónico con frecuencia de 40 kHz, a temperatura ambiente (25°C) y un periodo de 15 minutos; en este proceso las semillas y las cáscaras fueron analizadas por separado empleando una relación M: S equivalente a 1:10 y utilizando una mezcla de etanol: Agua (80/20 v/v). Dentro de las técnicas utilizadas para el análisis de los compuestos fenólicos se encuentra la cromatografía líquida de alta eficiencia con detector de diodos (HPLC-DAD) y cromatografía líquida con análisis de espectrometría de masas (HPLC-MS), ésta última se implementó con el fin de confirmar las identidades de los analitos presentes en las muestras realizadas. Los autores resaltan que la extracción ultrasónica fue efectiva al disminuir el tiempo y costo del proceso extractivo, lo anterior puede evitar el daño térmico y aumentar la cantidad de compuestos bioactivos.

²⁰¹ TREMOCOLDI, Maria, *et al.* Exploration of avocado by-products as natural sources of bioactive compounds [en línea]. [En: Plos One](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0192577). Febrero, 2018, vol. 13, no. 2. p. 1-12. [Consultado: 10 marzo 2019]. DOI: 10.1371/journal.pone.0192577

El artículo No. 22 de los autores REDDY, Mageshni, MOODLEY, Roshila y JONNALAGADDA, Sreekanth B²⁰². Evalúa 5 métodos para la obtención de aceite: extracción Soxhlet, ultrasonido, microondas, ultra-turrax y extracción con fluidos supercríticos, a partir del mesocarpio de las variedades de aguacate Hass y Fuerte. Para las técnicas mencionadas se utilizó hexano como disolvente, a excepción de la extracción con fluidos supercríticos donde se utilizó dióxido de carbono. Para el segundo proceso extractivo, se empleó un baño ultrasónico a 60°C durante un periodo de una hora, el artículo no especifica la cantidad de solvente utilizado para esta técnica, sin embargo, aclara que la cantidad de muestra utilizada equivale a 5 g. Los rendimientos arrojados para las metodologías aplicadas utilizando la variedad Hass son los siguientes: 64,76%, 54,63%, 69,94%, 63,38% y 62,87% respectivamente, siendo el mayor rendimiento el perteneciente a la extracción con microondas, mientras que los resultados arrojados por la extracción Soxhlet utilizando las dos variedades fueron los más reproducibles.

Los autores TAN, Chin Xuan, *et al*²⁰³. En el artículo No. 23, estudian la extracción asistida por ultrasonido del aceite propio del mesocarpio del aguacate con bajos contenido de ácidos grasos libres, utilizando el agua como disolvente. En el documento se utilizó un baño ultrasónico de 40 kHz de frecuencia y 240 W de potencia; y para la extracción de aceite, se evaluaron parámetros como: tiempo de sonicación, temperatura y relación agua/polvo (muestra molida), donde las condiciones estudiadas fueron: 10, 20 y 30 minutos para la primera variable; 20, 30 y 40°C para la segunda; y 4, 5 y 6 mL/g para la tercera. Según los resultados del diseño de experimentos realizado, los autores mencionan que la recuperación de aceite se afectó principalmente por la relación agua/polvo utilizada, seguida del tiempo de sonicación y por último la temperatura. En el documento se afirma, que la extracción de aceite aumentó cuando la temperatura y el tiempo de sonicación se incrementaron, para ésta última variable, se utilizó como máximo, un periodo equivalente de 30 minutos con el objetivo de que los componentes bioactivos no se degradaran; respecto a la proporción agua/polvo utilizada, en el artículo se menciona que la relación equivalente a 6ml/g fue la condición a la cual el porcentaje de recuperación de aceite fue mayor. Los autores aclaran que la cantidad de agua utilizada en el proceso influencia el rendimiento y la tasa de extracción de aceite, sin embargo, una cantidad excesiva de este disolvente en el proceso ultrasónico, puede reducir la transferencia de masa entre la muestra y el disolvente²⁰⁴. El tiempo

²⁰² REDDY, Mageshni; MOODLEY, Roshila y JONNALAGADDA, Sreekanth B. Fatty acid profile and elemental content of avocado (*Persea americana* Mill.) oil -effect of extraction methods [en línea]. *En*: Journal of Environmental Science and Health, Part B. Julio, 2012. vol. 47, no. 6. p. 529-537. [Consultado: 10 marzo 2019]. DOI: 10.1080/03601234.2012.665669

²⁰³ TAN, Chin Xuan, *et al*. Optimization of ultrasound-assisted aqueous extraction to produce virgin avocado oil with low free fatty acids [en línea]. *En*: Journal of Food Process Engineering. Abril, 2018, vol. 41, no. 2, p. 1-9. [Consultado: 12 marzo 2019]. DOI: 10.1111/jfpe.12656

²⁰⁴ LOU, Z., *et al*. Improved extraction of oil from chickpea under ultrasound in a dynamic system, citado por TAN, Chin Xuan, *et al*. Optimization of ultrasound-assisted aqueous extraction to produce virgin avocado oil with low free fatty acids [en línea]. *En*: Journal of Food Process Engineering. Abril, 2018, vol. 41, no. 2. p. 1-9. [Consultado: 12 marzo 2019]. DOI: 10.1111/jfpe.12656

y la temperatura de sonicación, tuvieron un efecto sinérgico en la recuperación del aceite, siendo las condiciones más favorables para la obtención de aceite con bajo contenido de ácidos grasos libres las siguientes: 30 minutos y una temperatura equivalente a 35°C.

De acuerdo a lo mencionado anteriormente, la búsqueda bibliográfica realizada sobre la extracción de aceite a partir de la semilla de aguacate variedad Hass, permitió evidenciar la ausencia de datos acerca de los procesos extractivos que utilizan este tipo de residuo. Por lo cual surge la necesidad de reunir otros recursos bibliográficos relacionados con la extracción de aceite de especies oleaginosas que utilizan también como metodología de extracción el baño ultrasónico, los documentos se enlistan a continuación:

Cuadro 7. Listado de artículos sobre extracciones utilizando ultrasonido en diversas especies oleaginosas.

#	Artículo		País/Año	Parámetros	Rango
	Título	Autor			
24	Ultrasonido en el procesamiento (homogenización, extracción y secado) de alimentos	CAMPO, Yesenia; GELVEZ, Victor y AYALA, Alfredo	Colombia	RELACIÓN MUESTRA/SOLVENTE	-
				SOLVENTE	Etanol
			2018	FRECUENCIA	45 kHz
				TEMPERATURA	60°C
25	The extraction of passion fruit oil with green solvents	CARDOSO, Ricardo; DAVANTEL, Sueli y GIMENES, Marcelino	Brasil	RELACIÓN MUESTRA/SOLVENTE	1:6
				SOLVENTE	Etanol
			2013	FRECUENCIA	44 kHz
				TEMPERATURA	60°C
26	Metodología para extracción de aceite de la Microalga <i>Nannochloropsis oculata</i> usando ultrasonido	FUENTES, María E. y ARANDA, Marleny D	Perú y Canadá	RELACIÓN MUESTRA/SOLVENTE	1:10
				SOLVENTE	Cloroformo: metanol
			2013	FRECUENCIA	-
				TEMPERATURA	50°C
				TIEMPO	45 min

Cuadro 7. (Continuación)

#	Artículo		País/Año	Parámetros	Rango
	Título	Autor			
27	Composición de ácidos grasos del aceite de las semillas de Moringa oleífera que crece en La Habana, Cuba	MARRERO, David, <i>et al.</i>	Cuba	RELACIÓN MUESTRA/SOLVENTE	1:20
				SOLVENTE	Hexano
			2014	FRECUENCIA	35 kHz
				TEMPERATURA	-
TIEMPO	2 h				
28	Extracción de aceite asistida por ultrasonido de granos de Girasol de alto contenido esteárico alto oleico	SPINELLA, María, <i>et al</i>	Argentina	RELACIÓN MUESTRA/SOLVENTE	1:10
				SOLVENTE	Hexano
			2015	FRECUENCIA	42 kHz
				TEMPERATURA	40°C
TIEMPO	30 min				
29	Extracción asistida por ultrasonido y caracterización de aceite de nuez de Brasil (<i>Bertholletia excelsa</i> H.B.K.)	SCHONS, Jessica, <i>et al</i>	Brasil	RELACIÓN MUESTRA/SOLVENTE	1:5
				SOLVENTE	Hexano
			2017	FRECUENCIA	45 kHz
				TEMPERATURA	35°C
TIEMPO	2 h				
30	Alternative oil extraction methods from <i>Echium plantagineum</i> L. seeds using advanced techniques and green solvents	CASTEJÓN, N.; LUNA, P. y SEÑORÁNS, F.J	España	RELACIÓN MUESTRA/SOLVENTE	1:10
				SOLVENTE	Etanol
			2018	FRECUENCIA	37 kHz
				TEMPERATURA	55°C
TIEMPO	30 min				

Fuente: elaboración propia

Contextualizando los documentos de la tabla anterior, se tiene lo siguiente:

En el artículo No. 24; los autores CAMPO, Yesenia; GELVEZ, Victor y AYALA, Alfredo²⁰⁵, analizan la aplicación del ultrasonido en actividades que involucran alimentos, tales como homogenización, secado y extracción. Respecto a esta última, en el documento se resalta que la implementación de esta metodología ultrasónica, mejora los rendimientos de extracción y facilita la utilización de solventes verdes alternativos. Los autores mencionan que recursos renovables como semillas oleaginosas son fuentes lipídicas que pueden utilizarse en este método extractivo con el fin de obtener diferentes compuestos tales como esteroides,

²⁰⁵ CAMPO, Op. cit., p. 102 – 113.

pigmentos, ácidos grasos libres, entre otros²⁰⁶. El artículo contiene entonces, una tabla que compila las condiciones de operación para la obtención de compuestos bioactivos a partir de diversas materias primas, en las cuales se incluyen residuos agroindustriales tales como cáscaras de cítricos, que para la extracción de flavonoides, utilizan un baño ultrasónico de 130 W, 45kHz de frecuencia, una temperatura de 60°C y un periodo de 60 min. Para el proceso se utilizó como solvente etanol al 96%.

En el artículo No. 25, los autores CARDOSO, Ricardo; DAVANTEL, Sueli y GIMENES, Marcelino²⁰⁷. Realizan la extracción de aceite de semillas de maracuyá empleando tres metodologías de extracción: ultrasonido, agitación, Soxhlet; y utilizando como disolventes acetona, etanol e isopropanol. En las técnicas de extracción utilizadas, fueron evaluados la influencia de la proporción muestra/solvente; el tiempo y el tipo de solvente; los resultados se compararon realizando las extracciones nuevamente, pero utilizando Hexano como disolvente. Respecto a la obtención de aceite utilizando la primera metodología de extracción, se utilizó un baño ultrasónico de 44kHz de frecuencia, y se evaluaron proporciones M: S equivalentes a 1:4, 1:6 y 1:8; así como tiempos de sonicación de 15, 30 y 60 minutos. Los autores mencionan que el mejor rendimiento de extracción empleando ultrasonido (23,8%), se obtuvo utilizando acetona como disolvente, una proporción M: S de 1:4 y 60 minutos de extracción. Sin embargo, para el etanol, el mejor rendimiento de extracción (19,5%) se obtuvo utilizando 60 minutos de extracción y una relación M: S de 1:6; para hexano, el mejor rendimiento (21,2%) se obtuvo utilizando una relación M: S de 1:8 y 60 minutos de extracción, mientras que, para el isopropanol, el mayor rendimiento (19,6%) se obtuvo utilizando una relación M: S de 1:8 y 60 minutos de extracción.

Los autores FUENTES, María E. y ARANDA, Marleny D²⁰⁸. En el artículo No. 26, realizan la extracción de aceite de la microalga *Nannochloropsis oculata* utilizando dos mezclas diferentes de disolventes: ciclohexano-isopropanol y cloroformo-metanol. Antes del proceso extractivo, las muestras de microalga fueron liofilizadas, refrigeradas con 15% de humedad y un tamaño de poro equivalente a 0,408 mm. Para la extracción se evaluaron diferentes temperaturas y tiempos de extracción de

²⁰⁶ SETYANINGSIH, W. *et al.* Optimization of the ultrasound- assisted extraction of melatonin from red rice (*Oryza sativa*) grains through a response surface methodology. Citado por CAMPO, Yesenia; GELVEZ, Víctor y AYALA, Alfredo. Ultrasonido en el procesamiento (homogenización, extracción y secado) de alimentos [en línea]. En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial. Enero – Junio, 2018, vol. 16, no. 1. p. 106. [Consultado: 13 marzo 2019]. ISSN: 1909-9959. DOI: 10.18684/bsaa.v16n1.628

²⁰⁷ CARDOSO, Ricardo; DAVANTEL, Sueli y GIMENES, Marcelino. The extraction of passion fruit oil with green solvents [en línea]. En: Journal of Food Engineering. Agosto, 2013, vol. 117, no. 4. p. 458-463. [Consultado: 14 marzo 2019]. ISSN: 0260-8774. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2012.12.004

²⁰⁸ FUENTES, María E. y ARANDA, Marleny D. Metodología para extracción de aceite de la microalga *Nannochloropsis oculata* usando ultrasonido [en línea]. En: Revista del Instituto de Investigación de la Facultad de Geología, Minas, Metalurgia y Ciencias Geográficas. Julio, 2013, vol. 16, no. 32. p. 34-37. [Consultado: 14 marzo 2019]. Disponible en: https://www.usfx.bo/nueva/vicerrectorado/citas/TECNOLOGICAS_20/Ingenieria%20de%20Medio%20Ambiente/4677-15743-1-PB.pdf

10, 20, 30 y 45 min, utilizando una proporción M: S 1:10 y un equipo ultrasónico con una amplitud del 70%. El mayor rendimiento obtenido utilizando la primera mezcla de disolventes orgánicos, es de 31,49% en 45 minutos de sonicación y 50 °C, sin embargo, un rendimiento de 30,54% fue alcanzado utilizando 10 minutos de sonicación y 56°C de temperatura; mientras que el mayor rendimiento para la segunda mezcla es de 33,55 % utilizando 45 minutos de sonicación y una temperatura de 50°C. En el artículo se menciona que la segunda mezcla de solventes resultó ser mejor para la extracción debido a su naturaleza polar y que el tamaño de poro fue crucial para mejorar la transferencia de masa del proceso, los autores también afirman que el rendimiento extractivo es afectado por un aumento de la temperatura, pues bajo esta condición, la presión de vapor de los disolventes aumenta provocando una disminución en su viscosidad y generando por consiguiente, un aumento en la transferencia de masa en la extracción. No obstante, según los resultados mencionados para la primera mezcla de disolventes, se afirma que trabajar con un tiempo de sonicación pequeño (10 minutos) y una elevada temperatura (56°C) reduce los costos energéticos del proceso y se alcanza un rendimiento considerable. En el documento se concluye que, a pesar de los resultados obtenidos, se eligió la mezcla ciclohexano-isopropanol por su baja toxicidad y su efecto menos contaminante.

Respecto al artículo No. 27, los autores MARRERO, David, *et al*²⁰⁹. Realizan la extracción del aceite de la especie *Moringa oleífera* con el fin de estudiar su composición de ácidos grasos mediante cromatografía de gases con detector de ionización de llama FID. Las semillas de la especie utilizada, se secaron a 40°C en una estufa con recirculación de aire por un periodo de 3 días y luego se sometieron a molienda. Para la obtención de aceite, la muestra se introdujo en un equipo ultrasónico de 35kHz durante 2 horas, utilizando como disolvente hexano y una proporción muestra: solvente de 1:20. La extracción arrojó un rendimiento de 26,5% mientras que la caracterización del mismo, arrojó un contenido de ácidos grasos equivalente al 96%, con los ácidos: oleico, palmítico y docosanoico, como los predominantes.

En el documento No. 28, los autores SPINELLA, Maria, *et al*²¹⁰. Se evalúa el efecto de la temperatura, potencia y contenido de humedad de grano durante la extracción de aceite de granos de girasol alto esteárico alto oleico mediante ultrasonido y soxhlet. Inicialmente, los autores valoran dos contenidos de humedad: 8,3% (base seca) que corresponde al porcentaje óptimo para el proceso de descascarado de la materia prima, y 4,04% (base seca), que corresponde a la humedad del grano secado durante 3 días a 40°C en una estufa de circulación forzada; el primer contenido de humedad, fue el seleccionado para el proceso con el fin de reducir el

²⁰⁹ MARRERO, David, *et al*. Composición de ácidos grasos del aceite de las semillas de *Moringa oleífera* que crece en La Habana, Cuba [en línea]. *En*: Revista Cubana de Plantas Medicinales. Junio, 2014, vol. 19, no. 2. p. 197-204. [Consultado: 15 marzo 2019]. ISSN: 1028-4796. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962014000200008

²¹⁰ SPINELLA, Op. cit., p. 1-15.

consumo energético que implicaba llegar a una humedad más baja; las muestras fueron sometidas posteriormente a molienda utilizando un molino de cuchillas. Para el proceso extractivo con ultrasonido se emplearon dos baños ultrasónicos de 42kHz, 100W y 40kHz, 400W respectivamente; los ensayos se realizaron utilizando n-Hexano como disolvente, un tamaño de partícula menor a 840 µm, una relación de M: S equivalente a 1:10 (g/ml), un periodo de 30 minutos y temperaturas de 25, 30, 40, 50 y 60°C. En el documento se menciona, que bajo las condiciones anteriores, el porcentaje de humedad óptimo para el descascarado se encuentra dentro del rango de almacenamiento seguro de granos de girasol y que por lo tanto, resulta económicamente favorable el procesamiento de esta materia prima con contenidos de humedad cercanos a 8% en base seca, los autores también mencionan que al trabajar con una potencia de 100W, existen diferencias significativas de rendimiento de aceite para las temperaturas trabajadas, donde las temperaturas de 30, 50 y 60°C arrojaron rendimientos superiores a las temperaturas de 25 y 30°C, siendo los rendimientos más altos: 27,67% para 40°C y 27,51% para 60°C, en el documento se resalta que un aumento de la temperatura mejora los rendimientos de extracción debido a que incrementa la solubilidad del aceite en el disolvente. Los experimentos realizados a 400W de potencia y 8,3% de humedad, no reflejan efectos significativos de la temperatura sobre el rendimiento extractivo. Finalmente, los autores seleccionan las siguientes condiciones para el mejor experimento: 40°C, un periodo de 30 minutos, un contenido de humedad equivalente a 8,3% (base seca) y una potencia de 100W, esta última variable se prefirió con el fin de reducir costos energéticos.

En el artículo No. 29, los autores SCHONS, Jessica, *et al*²¹¹. Buscan obtener y verificar la calidad del aceite extraído por ultrasonido utilizando un baño ultrasónico durante un periodo de 2 horas, una frecuencia de 45kHz, una proporción M:S equivalente a 1:5, una temperatura de 35°C y hexano como disolvente; el aceite obtenido arrojó un rendimiento de 37,38% y fue sometido a pruebas de humedad, cenizas, índice de acidez, índice de refracción, índice de saponificación, índice de peróxidos, ácido oleico, índice de yodo y densidad, a partir de los cuales mostró buena calidad. Los autores mencionan que el proceso extractivo utilizando ultrasonido demostró ser una tecnología simple, rápida y económica en comparación con extracción por prensado y Soxhlet.

En el artículo No. 30, los autores CASTEJÓN, N.; LUNA, P. y SEÑORÁNS, F. J²¹², realizan la extracción de aceite de semillas de *Echium plantagineum* L utilizando cuatro metodologías de extracción: soxhlet, microondas, fluidos a alta presión y ultrasonido; evaluando la implementación de acetato de etilo, etanol y hexano como disolventes. Antes de los procesos extractivos las semillas fueron molidas

²¹¹ SCHONS, Jessica, et al. Extração assistida por ultrassom e caracterização do óleo da castanha-do-brasil (*Bertholletia excelsa* H.B.K.) [en línea]. *En*: Interciencia. Septiembre, 2017, vol. 42, no. 9. p. 586-590. [Consultado: 17 marzo 2019]. Disponible en: <http://docplayer.com.br/66116195-Extracao-assistida-por-ultrassom-e-caracterizacao-do-oleo-da-castanha-do-brasil-bertholletia-excelsa-h-b-k.html>

²¹² CASTEJON. Op. Cit.; p. 2976-2990

obteniendo tamaños de partícula menores a 500 μm . Respecto a la última técnica extractiva, se utilizó un baño ultrasónico de 37kHz, una relación M: S equivalente a 1:10. Se evaluaron temperaturas de extracción de 30, 55 y 80°C, así como tiempos de extracción de 15 y 30 minutos. Los autores mencionan que la relación M: S trabajada mejora la transferencia de masa en el proceso, a su vez se afirma que, para el etanol, la utilización de una temperatura de 55°C, permitió la obtención de un rendimiento equivalente a 29,1%. Evaluando el tiempo en el proceso extractivo, en el documento se concluye que el etanol fue significativamente más efectivo que el acetato de etilo y el hexano a todas las temperaturas probadas, usando 30 minutos. A las condiciones de 55°C empleando etanol como disolvente, se obtuvo un rendimiento 15% mayor que el alcanzado con hexano a la misma temperatura.

2.1.3 Parámetros para la extracción soxhlet. A pesar de la variedad de tecnologías de extracción actualmente estudiadas, soxhlet sigue siendo la metodología más utilizada a nivel de laboratorio; debido a su simplicidad de proceso, alta recuperación, bajo requerimiento de energía²¹³ y facilidad de contacto continuo entre la muestra y las porciones frescas del disolvente. Autores como KITTIPHOM, S. y SUTASINEE, S²¹⁴ afirman que los rendimientos obtenidos por esta técnica superan los obtenidos por otros procedimientos de extracción convencionales.

Mediante la búsqueda de información en diferentes bases de datos, se encontraron estudios relacionados con extracciones a partir de semillas de aguacate pertenecientes al género *Persea americana* Miller utilizando esta metodología extractiva; los datos se consignaron en el siguiente cuadro:

Cuadro 8. Condiciones de operación para la extracción de aceite de semillas de aguacate mediante extracción soxhlet.

#	Artículo		País/Año	Parámetros	Rango
	Título	Autor			
31	Actividad antioxidante de los residuos del aguacate Hass (<i>Persea americana</i> Mill. var Hass) sometidos a extracciones clásicas y a fluidos presurizados	POLANIA, Wilson	Colombia	MASA	15 mL/g
				SOLVENTE	Etanol
			2014	TIEMPO	8 h
				RENDIMIENTO (%)	5,8

²¹³ KANADEA, R. y BHATKHANDEB, D. Extraction of ginger oil using different methods and effect of solvents, time, temperature to maximize yield [en línea]. En: International Journal of Advances in Science Engineering and Technology. Septiembre, 2016, vol. 4. p. 241. [Consultado: 20 junio 2019]. ISSN 2321-9009. Disponible en: http://www.iraj.in/journal/journal_file/journal_pdf/6-291-1477120320241-244.pdf

²¹⁴ KITTIPHOM, S. y SUTASINEE, S. Mango seed kernel oil and its physicochemical properties [en línea]. En: International Food Research Journal. 2013, vol. 20, no. 3. p. 1145 [Consultado: 20 junio 2019]. ISSN 1985-4668.

Cuadro 8. (Continuación).

#	Artículo		País/Año	Parámetros	Rango
	Título	Autor			
32	Análisis de fitoesteroles en la semilla de <i>Persea americana</i> Miller (var. lorena) por cromatografía de gases y cromatografía líquida de alta eficiencia	BARRERA, Rosa y ARRUBLA, Juan	Colombia	MASA	5 mL/g
				SOLVENTE	Hexano
			2017	TIEMPO	24 h
				RENDIMIENTO (%)	8,47

Fuente: elaboración propia.

En el artículo No. 31 realizado por POLANIA, Wilson²¹⁵, se evalúa la actividad antioxidante de los residuos del aguacate, específicamente la semilla y el epicarpio de la especie *Persea americana* Mill. Var. Hass, el proceso se llevó a cabo a presión reducida y se utilizaron directamente y de forma sucesiva solventes como hexano, acetato de etilo y etanol en proporción 15 mL disolvente por gramo de muestra. Las temperaturas utilizadas equivalen a 35°C para los primeros dos solventes, mientras que para extracciones etanólicas se utilizó una temperatura de 40°C. En el documento se menciona que el tipo de biomasa utilizada (semilla o epicarpio) influye en el rendimiento de extracción, también se reporta que los mayores rendimientos del proceso, pertenecieron a aquellos extractos en donde se empleó un solo solvente sin que la biomasa hubiera pasado por otro de manera previa, de modo que el mayor rendimiento se le atribuyó al extracto etanólico con resultados de 13,9% para epicarpio y 5,8% para la semilla. Los autores mencionan que el solvente fue determinante en el momento extractivo, siendo la semilla en comparación con el epicarpio la fuente más abundante de compuestos fenólicos.

El artículo No. 32, corresponde a la investigación que llevaron a cabo BARRERA, Rosa y ARRUBLA, Juan²¹⁶ para determinar el contenido y composición de fitoesteroles a partir del aceite de la semilla de aguacate *Persea americana* Mill. Var. Lorena. El proceso de extracción de aceite se realizó por el método Soxhlet utilizando n-hexano como solvente, una relación muestra: solvente equivalente a 1:5 y un periodo de 24 horas. En el documento se menciona que el proceso de extracción de aceite arrojó un rendimiento de 8,47 ± 0.084%, en el cual se encontró un contenido apreciable de fitoesteroles, siendo el ergosterol uno de los más abundantes en este tipo de residuo; los autores resaltan que la concentración de éste compuesto es superior a la del estándar según el análisis cualitativo realizado por cromatografía líquida, mientras que mediante un análisis cuantitativo por cromatografía de gases, se logró determinar la presencia de los fitoesteroles como

²¹⁵ POLANIA, Op, cit., p 41-90.

²¹⁶ BARRERA, Rosa y ARRUBLA Juan. Análisis de fitoesteroles en la semilla de *Persea americana* Miller (Var. Lorena) por cromatografía de gases y cromatografía líquida de alta eficiencia [en línea]. En: Revista facultad de ciencias básicas. Febrero, 2017, vol.; 13, no. 1. p. 35-40. [Consultado: 18 marzo 2019]. ISSN: 1900-4699 DOI: 10.18359/rfcb.2013. Disponible en: <https://revistas.unimilitar.edu.co/index.php/rfcb>

el estigmasterol y 5- α -colestano con concentraciones de 19,17 \pm 0,020 ppm y 49,77 \pm 0,020 ppm respectivamente.

Siguiendo la metodología realizada para las dos técnicas presentadas en las secciones 2.1.1 y 2.2.2 respecto a extracciones asistidas con microondas y ultrasonido respectivamente, se consultaron artículos relacionados con procesos extractivos de diversas especies oleaginosas utilizando soxhlet, los datos se muestran en el siguiente cuadro.

Cuadro 9. Condiciones de operación para la extracción de aceite mediante extracción soxhlet.

#	Artículo		País/Año	Parámetros	Rango
	Título	Autor			
33	Extraction and Characterization of Vegetable Oils from Cherry Seed by Different Extraction Processes	STRACCIA, Maria, <i>et al</i>	Italia	MASA (g)	20
				SOLVENTE	Dietil Eter
			2012	TIEMPO	6 h
				RENDIMIENTO (%)	-
34	The extraction of passion fruit oil with green solvents	CARDOSO, Ricardo; DAVANTEL, Sueli y GIMENES, Marcelino	Brasil	MASA (g)	5
				SOLVENTE	Etanol
			2013	TIEMPO	8 h
				RENDIMIENTO (%)	14,4
35	Mango seed kernel oil and its physicochemical properties	KITTIPHOOM, S. y SUTASINEE, S.	Tailandia	MASA (mL/g)	10 mL/g
				SOLVENTE	Etanol
			2013	TIEMPO	6 h
				RENDIMIENTO (%)	6,96
36	Extracción de aceite asistida por ultrasonido de granos de Girasol de alto contenido esteárico alto oleico	SPINELLA, María, <i>et al</i>	Argentina	MASA (g)	5
				SOLVENTE	Hexano
			2015	TIEMPO	4,5 h
				RENDIMIENTO (%)	33
37	Extraction of Essential Oils from <i>Melaleuca alternifolia</i> sp. (Australian Tea Tree Plant) using Solvent Extraction Method	RAJANTEREH, Yuvanesh	Malasia	MASA (mL/g)	6 mL/g
				SOLVENTE	Etanol
			2015	TIEMPO	6 ciclos
				RENDIMIENTO (%)	0,78

Cuadro 9. (Continuación).

#	Artículo		País/Año	Parámetros	Rango
	Título	Autor			
38	Extraction of ginger oil using different methods and effect of solvents, time, temperature to maximize yield	KANADEA, R. y BHATKHANDEB, D	India	MASA (mL/g)	4 mL/g
				SOLVENTE	Acetona
			2016	TIEMPO	4 h
				RENDIMIENTO (%)	57,8
39	Alternative oil extraction methods from Echimium plantagineum L. seeds using advanced techniques and green solvents	CASTEJÓN, N., LUNA, P. y SEÑORÁNS, F.J	España	MASA (g)	5
				SOLVENTE	Hexano
			2018	TIEMPO	8 h
				RENDIMIENTO (%)	31,3

Fuente: elaboración propia

A continuación, se contextualiza los artículos mencionados en el cuadro anterior:

Los autores STRACCIA, Maria, *et al*²¹⁷. En el artículo No. 33, realizaron la extracción de aceite de semillas de cereza con el objetivo de comparar el contenido y composición de los compuestos presentes en el mismo (ácidos grasos y fitoesteroles) mediante CG, cuando se utilizan las técnicas de extracción con fluidos supercríticos, utilizando dióxido de carbono como disolvente, y extracción Soxhlet utilizando dietil éter. Para el proceso extractivo utilizando ésta última metodología, se utilizó 20 g de muestra y un periodo de tiempo de 6 horas, el solvente se eliminó posteriormente utilizando un rotaevaporador. En el documento, no se reporta la cantidad de aceite obtenido, sin embargo, los autores mencionan para las dos metodologías, existe presencia de dos fitoesteroles en la fracción insaponificable de las sustancias oleicas extraídas, siendo éstos el β -sitosterol y campesterol. El aceite obtenido por SFE se consideró de mayor calidad que el extraído con Soxhlet.

El artículo No. 34, tal como se mencionó en la sección 2.1.2, los autores CARDOSO, Ricardo; DAVANTEL, Sueli y GIMENES, Marcelino²¹⁸, realizaron la extracción de aceite de semillas de maracuyá empleando como metodologías: ultrasonido, agitación, Soxhlet. En las técnicas utilizadas, se evaluó la proporción muestra/solvente, el tiempo y el uso de acetona, etanol e isopropanol como disolventes; los procesos se compararon con las extracciones convencionales realizadas con hexano. Respecto a la primera metodología de extracción (Soxhlet), se evaluaron tiempos de extracción de 4, 8, 16 y 24 horas, utilizando 5 gramos de muestra y una temperatura de 5°C por encima de los puntos de ebullición de los

²¹⁷ STRACCIA, Maria, *et al*. Extraction and Characterization of Vegetable Oils from Cherry Seed by Different Extraction Processes [en línea]. *En*: Chemical Engineering Transactions. Febrero, 2012, vol. 27. p. 391-393. [Consultado: 21 Junio 2019]. ISSN 19749791. DOI: 10.3303/CET1227066

²¹⁸ CARDOSO. Op. Cit.; p. 459-460

solventes empleados. Los autores mencionan que los rendimientos encontrados cuando se utiliza acetona e isopropanol, no presentan diferencias significativas entre ellos, sin embargo, los resultados si difieren cuando las extracciones se realizan con etanol, esto debido a que las moléculas de los disolventes están compuestas por átomos que poseen electronegatividades diferentes; los autores también mencionan que para los primeros dos disolventes (acetona e isopropanol) el número de lavados o sifones fue mayor que aquellos que se realizaron empleando etanol. De acuerdo al documento, el mayor rendimiento (26,4%) se obtuvo realizando la extracción convencional con hexano durante un periodo de 24 horas, mientras que, utilizando etanol como disolvente, el mayor rendimiento se alcanzó utilizando un periodo de 8 horas (14,4%). Las extracciones realizadas con acetona e isopropanol presentaron rendimientos de aproximadamente 15%.

En el artículo No. 35, los autores KITTIPHOOM, S. y SUTASINEE, S²¹⁹; realizaron la extracción de aceite de semilla de mango utilizando la extracción Soxhlet y empleando como disolventes éter de petróleo, etanol y hexano; al aceite obtenido se le realizaron pruebas fisicoquímicas tales como índice de acidez, índice de yodo, peróxidos y saponificación; determinación de composición de ácidos grasos y contenido fenólico fueron dos pruebas adicionales a las que también fue sometida la sustancia oleica, con el fin de estudiar la calidad de la misma. Respecto al proceso extractivo con soxhlet, los autores utilizaron condiciones establecidas previamente tales como: una proporción M: S equivalente a 1:10 y una temperatura de 50°C durante un periodo de 6 horas; los extractos resultantes fueron separados del disolvente utilizando un rotaevaporador. Según el documento, el hexano fue el disolvente que proporcionó el rendimiento más alto de extracción de aceite (8,46%), seguido del éter de petróleo (8,04%) y por último el etanol (6,96%), los autores mencionan que la polaridad, la temperatura de ebullición del solvente y la interacción entre este último y el soluto, son factores que pueden influir tanto en la eficacia y el rendimiento de extracción como en la composición del aceite extraído.

En el artículo No. 36, tal como se mencionó en la sección 2.1.2, los autores SPINELLA, Maria, *et al*²²⁰, realizaron la extracción de aceite de granos de girasol alto esteárico alto oleico, utilizando Soxhlet como técnica de comparación para muestras pre-tratadas 30 minutos con ultrasonido a las condiciones más favorables (estudiadas por los autores), así como para muestras sin pre-tratamiento (MSP) a diferentes tiempos de extracción (30, 90, 210, 270, 330 y 480 min); los procedimientos extractivos se realizaron empleando 5 gramos de muestra y hexano como disolvente. En el documento se menciona que para los ensayos MSP, el rendimiento total de aceite se obtuvo a los 270 minutos de extracción (33% aproximadamente), los periodos más largos no arrojaron resultados con diferencias significativas.

²¹⁹ KITTIPHOOM. Op. cit.; p. 1145-1147

²²⁰ SPINELLA. Op. cit.; p. 1-15

En el artículo No. 37, el autor RAJANTEREH, Yuvanesh²²¹, realiza la extracción de aceite de la especie *Melaleuca alternifolia*, con el objetivo de investigar que componentes hacen que ésta sustancia oleosa posea un valor nutricional y terapéutico, con características antifúngicas, antimicrobianas y antiinflamatorias. En el documento, se estudia la extracción Soxhlet de ésta especie vegetal, empleando como solventes el éter de petróleo, n-hexano, etanol y metanol; una relación M: S equivalente a 1:6, y un total de 6 sifones o ciclos de reflujo. En el proceso, el solvente se remueve utilizando un rotaevaporador en condiciones de vacío y una temperatura de 40°C; las ceras y resinas se eliminan disolviéndolas en alcohol absoluto (metanol) y sometiendo posteriormente la muestra a un proceso de filtración al vacío; mientras que la composición del aceite obtenido se realiza mediante GC-MS. Los autores reportan que el mayor rendimiento para la extracción de aceite es de 1,06% utilizando éter de petróleo como disolvente, este resultado corresponde a 0,53 g de aceite extraído/ g de muestra; en el caso del hexano, se obtuvo un rendimiento de 0,96 % que corresponde a 0,48 g de aceite extraído/ g de muestra. El rendimiento obtenido para el etanol y el metanol, corresponde a 0,78%, que representa la extracción de 0,39 g de aceite extraído/ g de muestra. Los cuatro solventes utilizados extrajeron hidrocarburos monoterpénicos como terpinen-4-ol; 1,8-cineole; α -terpineol y γ -terpinene, siendo éstos mayoritariamente presentes en los disolventes apolares como hexano y éter de petróleo.

En el artículo No. 38, los autores KANADEA, R. y BHATKHANDEB, D²²², realizan la extracción de aceite de jengibre empleando Soxhlet, extracción asistida por ultrasonido y agitador de autoclave. Para la primera técnica extractiva, se emplearon como solventes metanol, etanol, acetona, n-hexano y agua, se utilizó una temperatura de 80°C, una relación M: S equivalente a 1:4 y tiempos de 1, 2, 4, 6 y 8 horas; los compuestos presentes en el aceite, se estudiaron mediante HPLC. Los autores mencionan que, en la extracción por Soxhlet, el disolvente que permitió obtener la mayor cantidad de aceite (28,9 mL) fue la acetona, seguida de n-hexano con un valor de 13 mL, etanol con 12,5 mL, metanol con 12,2 mL y finalmente agua con 11,8 mL. Por otro lado, respecto al tiempo de extracción (utilizando acetona como disolvente), en el documento se menciona que tiempos de extracción prolongados arrojan valores constantes de aceite de jengibre recogido, por lo que los autores seleccionaron el periodo de 4 horas, como el tiempo suficiente de extracción que permite la disminución del consumo de energía requerido en el proceso.

²²¹ RAJANTEREH, Yuvanesh. Extraction of Essential Oils from *Melaleuca alternifolia* sp. (Australian Tea Tree Plant) using Solvent Extraction Method [En línea]. Tesis para licenciatura en Ingeniería Química. Universidad Teknologi Petronas, 2015. [Consultado: 19 Junio 2019]. Disponible en: http://utpedia.utp.edu.my/16462/1/FYP%20Dissertation_15502_Yuvanesh%20Rajantereh_Chemical%20Engineering.pdf

²²² KANADEA. Op. Cit.; p. 241-243

Los autores CASTEJÓN, N.; LUNA, P. y SEÑORÁNS, F. J²²³, en el artículo No. 39, realizaron la extracción de aceite de semillas de *Echium plantagineum L* tal como se mencionó en la sección 2.1.2; en el proceso, se evaluaron tres metodologías de extracción (microondas, fluidos a alta presión y ultrasonido) frente al proceso convencional realizado por Soxhlet. Pese a que en el documento se emplearon diferentes solventes en las técnicas alternativas, para el caso de Soxhlet los autores, efectuaron el experimento extractivo sin realizar ninguna evaluación de parámetros, por lo que la extracción se ejecutó según condiciones previamente establecidas, estas fueron: 5 g de muestra de semilla molida y reflujo continuo de hexano por un periodo de 8 horas. El rendimiento determinado por los autores para este proceso, es de 31,3%.

2.1.4 Selección de solvente para la extracción de aceite. El hexano es un solvente permitido por la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) así como por la Comisión Europea. Sin embargo, está clasificado como peligroso y como solvente no preferido por las autoridades internacionales. Utilizado durante décadas para la determinación de grasas y aceites en productos alimenticios dado que ofrece extracciones satisfactorias debido a su bajo punto de ebullición y su baja polaridad²²⁴.

En la industria de aceite vegetal se utiliza grandes volúmenes de este solvente y largos tiempos de extracción que causan problemas ambientales, ya que se ha identificado que pueden reaccionar con otros contaminantes para formar ozono y oxidantes fotoquímicos, debido a las pérdidas directas de disolventes orgánicos en la atmósfera; por lo tanto, se necesitan solventes alternativos para reducir estas emisiones, así como los posibles rastros de hexano en los aceites comestibles después del refino²²⁵.

Muchos trabajos trataron los efectos tóxicos y peligrosos de este solvente, por lo que en los últimos años, ha habido avances importantes en el desarrollo, la optimización y las aplicaciones de las técnicas de extracción con solventes verdes, en vista de que proporcionan tiempos de extracción más cortos, menos uso de solvente y evitan riesgos para la salud, mediante la sustitución de sustancias tóxicas e inseguras lo que hace que el proceso de extracción en general sea más respetuoso con el medio ambiente²²⁶.

La tabla 5 enumera y compara las propiedades relevantes de tres solventes diferentes, utilizados en procesos extractivos. Estos son: n-Hexano, D-Limoneno y Etanol.

²²³ CASTEJÓN. Op. cit., p. 76-79

²²⁴ Ibid., p. 75-82

²²⁵ BAÜMLER, Erica; CARRÍN, María y CARELLI, Amalia. Extraction of sunflower oil using ethanol as solvent. [en línea]. En: Journal of Food Engineering. Enero, 2016, vol. 178, p. 190-197. [Consultado: 25 febrero 2019]. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodeng.2016.01.020>.

²²⁶ VIROT, Op. cit., p. 8615-8616

Tabla 5. Propiedades relevantes del n-Hexano, D-Limoneno y Etanol.

Propiedades	n-Hexano	D-Limoneno	Etanol
Punto de ebullición (°C)	68.7	175.5	78.3
Densidad (g/mL)	0.6603	0.8411	0.7893
Calor de vaporización (kJ/kg)	334	353	839.31
Constante dieléctrica (ϵ)	2	2.3	24.5
Impacto ambiental	Alto	Bajo	Bajo
Tóxico	Si	No	No

Fuente: elaboración propia

El D-Limoneno es un subproducto importante de la industria de los cítricos, siendo el componente principal de los aceites extraídos de estos residuos, que desempeñan un papel importante en el campo del sabor y las fragancias gracias a sus propiedades físicas y químicas. Estudios recientes han destacado las cualidades limpiadoras y desengrasantes de este solvente, por lo cual se ha convertido en una alternativa beneficiosa, capaz de sustituir productos desengrasantes convencionales y/o hidrocarburos halogenados utilizados tradicionalmente en industrias y limpieza doméstica.

El limoneno se caracteriza por su alto poder disolvente y la facilidad que ofrece para la extracción de grasas y aceites, además, es considerado un buen disolvente de extracción, ya que sus propiedades se parecen a las del n-hexano en términos de polaridad²²⁷. La extracción desarrollada con este solvente, ya ha sido descrita en diversas investigaciones como las realizadas por los autores VIROT, Matthieu., et al, quienes demostraron que la extracción de aceite de olivo fue posible mediante el uso de D-limoneno en lugar del n-hexano, convirtiéndose en una alternativa verde que reduce los impactos tóxicos en el proceso.

Pese a lo mencionado, el principal problema de usar solventes verdes radica en su elevado costo, alto punto de ebullición, generación de sabores desagradables y alta viscosidad²²⁸. Las dos primeras características se le atribuyen al D – Limonelo, este solvente está relacionado con el aumento del consumo de energía para su recuperación durante la etapa de evaporación, debido a su mayor punto de ebullición (175 °C) en comparación con el n-hexano (69 °C).

Por otro lado, el etanol es uno de los solventes alternativos ampliamente estudiados debido a su economía y porque puede ser producido por fermentación a partir de una amplia variedad de materiales biológicos utilizando una tecnología simple, por consiguiente, puede etiquetarse como "natural" o "bio-renovable". Solventes

²²⁷ VIROT, M, *et al.* Total lipid extraction of food using d-limonene as an alternative to n-hexane, Citado por CHEMAT, Farid, VIAN, Maryline y CRAVOTTO, Giancarlo. Green Extraction of Natural Products: Concept and Principles [en línea]. En: International Journal of Molecular Sciences. 2012, vol. 13, no. 7. p. 8615-8627. [Consultado: 1 abril 2019]. ISSN: 1422-0067. DOI: 10.3390/ijms13078615

²²⁸ CHEMAT, Farid; VIAN, Maryline y CRAVOTTO, Giancarlo. Green Extraction of Natural Products: Concept and Principles [en línea]. En: International Journal of Molecular Sciences. 2012, vol. 13, no. 7. p. 8615-8627. [Consultado: 1 abril 2019]. ISSN: 1422-0067. DOI: 10.3390/ijms13078615

alcohólicos como éste, son reconocidos como no tóxicos, y pese a su inflamabilidad, poseen menos riesgos de manipulación que el hexano²²⁹.

Actualmente los solventes más comunes se clasifican en cuatro categorías: altamente peligrosa (1), peligrosa (2), problemática (3) y recomendada o preferida (4). Este ordenamiento se ha desarrollado con el fin de promover el uso de disolventes recomendados, como el etanol y el agua; y evitar los disolventes peligrosos. El etanol se clasifica como solvente de clase 3 y el hexano como clase de 2, donde éste último, presenta una toxicidad inherente y deben estar limitados en productos farmacéuticos, mientras que solventes pertenecientes a la clase 3 poseen un menor riesgo para la salud humana²³⁰.

Ya han sido reportados, artículos en los cuales se documenta la utilización del etanol en procesos de extracción. Autores como ZHUANG, Xiaoci, *et al*²³¹, afirman que el etanol posee características químicas similares al n-hexano, tales como índice de refracción, punto de ebullición, tensión superficial y entalpía de vaporización, de manera que podría no haber diferencia significativa para el consumo de energía en la recuperación de estos solventes. El autor también aclara que a diferencia del n-hexano, el etanol posee una constante dieléctrica más alta lo que resulta en una mayor polaridad debido a la presencia de grupos hidroxilo.

El artículo “Extraction of sunflower oil using ethanol as solvent” realizado por BAÜMLER, CARRÍN y CARELLI²³², desarrolla la extracción de aceite de girasol evaluando el etanol como disolvente y menciona que al utilizar este último, el contenido de componentes solubles o fracción lipídica de la fase oleosa obtenida (rendimiento equivalente a 22,2% b.s), fue similar a la extraída con n-Hexano (rendimiento de 22.8% b.s), por lo que alcoholes como el etanol e isopropanol son los solventes más prometedores para extracciones de aceite. Los autores afirman que el etanol posee afinidad con la fracción lipídica de materiales sensibles a extracción, característica similar al solvente n – Hexano, sin embargo, existe una diferencia de polaridades entre los disolventes, lo que explica la facilidad del etanol para la extracción de lípidos polares, como los fosfolípidos.

En investigaciones como “Phytosterols and their derivatives: Structural diversity, distribution, metabolism, analysis, and health-promoting use”, realizada por los

²²⁹ BAÜMLER, Op. cit., p. 190-197

²³⁰ SAMPAIO, Oscar; CALDAS, Eduardo y MEIRELLES, Antonio. The employment of ethanol as solvent to extract Brazil nut oil [en línea]. *En*: Journal of Cleaner Production. Enero, 2018, vol. 180, p. 866-875. [Consultado: 25 febrero 2019]. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.01.149>.

²³¹ ZHUANG, Xiaoci, et al. The effect of alternative solvents to n-hexane on the green extraction of Litsea cubeba kernel oils as new oil sources [en línea]. *En*: Industrial Crops & Products. Diciembre, 2018, vol. 126, p. 340-346. [Consultado: 02 abril 2019]. ISSN: 0926-6690. DOI: 10.1016/j.indcrop.2018.10.004

²³² BAÜMLER. Op. Cit., p. 193

autores MOREAU, Robert, *et al*²³³, documentan que solventes como el etanol caliente, pueden ser útiles para la extracción de lípidos polares (PL), esteroides libres (FS) o fitoesteroides conjugados (unidos covalentemente a través de enlace éster o enlace glicosídico a la glucosa de otros azúcares) como ésteres de ácidos grasos (SE), glucósidos de esterilo (SG) y glucósidos de esterilo acilados (ASG).

Estudios previos del documento anterior, realizados en el 2002 por MOREAU, Robert A, WHITAKER, Bruce D y HICKS, Kevin B²³⁴, documentan que se obtuvo más del 95% de los fitoesteroides tipo FS, SE en extracciones de esteroides a partir de la fibra de maíz utilizando cuatro solventes diferentes: hexano, cloruro de metileno, etanol e isopropanol. Por otro lado, los autores mencionan que los fitoesteroides conjugados ASG y SG, se extraen parcialmente utilizando n-Hexano, mientras que utilizando solventes más polares se obtiene un mayor rendimiento de extracción.

Todos los estudios mencionados, indicaron la viabilidad del etanol como disolvente para la extracción del aceite vegetal, debido a su economía, fácil acceso, bajo impacto ambiental y fácil recuperación. Es importante mencionar, que ya se ha demostrado que este solvente permite la extracción de fitoesteroides, una situación que también influye en la selección de este solvente.

2.2 EXTRACCIÓN DE ACEITE

2.2.1 Obtención de Materia Prima. El fruto de aguacate Hass fue adquirido en el mercado local de la plaza de Corabastos situada al occidente de la ciudad de Bogotá, Colombia. Esta materia prima corresponde a los residuos que se generan en las diferentes bodegas del lugar, debido a las malas prácticas de manejo y almacenamiento, lo que produce que el fruto presente defectos de calidad como estado de sobre maduración o imperfecciones en el estado físico.

El material se recolectó en dos ciclos diferentes correspondientes a los días 7 y 26 del mes de enero.

2.2.2 Pretratamiento de la materia prima. Las semillas de aguacate Hass se separaron manualmente del mesocarpio, esta actividad se facilitó debido al estado de sobremaduración en el que se encontraban algunos frutos, y se limpiaron con un flujo continuo de agua potable, de manera que se eliminaran trazas de la parte

²³³ MOREAU, Robert, *et al*. Phytosterols and their derivatives: Structural diversity, distribution, metabolism, analysis, and health-promoting uses. sources [en línea]. *En*: Progress in lipid research. Abril, 2018, vol. 70. p. 35-61. [Consultado: 4 abril 2019]. ISSN: 0163-7827. DOI: 10.1016/j.plipres.2018.04.001

²³⁴ MOREAU, Robert A, WHITAKER, Bruce D y HICKS, Kevin B. Phytosterols, phytostanols, and their conjugates in foods: structural diversity, quantitative analysis, and health-promoting uses [en línea]. *En*: Progress in lipid research. Noviembre, 2002, Vol. 41. p. 457-500. [Consultado: 04 abril 2019]. ISSN: 0163-7827. DOI:10.1016/S0163-7827(02)00006-1

carnosa del fruto. Posteriormente, el agua adherida a la superficie de la semilla se eliminó con la ayuda de un papel absorbente.

Para evitar el deterioro y preservar su calidad durante el almacenamiento, las semillas se separaron en dos secciones y extendieron en una bandeja. La primera sección de semillas de aguacate Hass, fue almacenada en bolsas plásticas herméticas a una temperatura de 4°C. En la segunda sección, las semillas de aguacate Hass se dejaron secar a temperatura ambiente (18 - 20°C) durante aproximadamente () días, para más adelante extraer el aceite.

Imagen 20. Semillas de aguacate después del pretratamiento.



Fuente: elaboración propia.

2.2.3 Caracterización semillas de aguacate. De acuerdo a lo mencionado el capítulo anterior, la caracterización de semillas corresponde a una actividad primordial, puesto que el estudio de las propiedades físicas de estos residuos aporta información para diversas actividades dentro de las que se incluye el dimensionamiento de equipos en etapas de almacenamiento y transporte.

El manejo de las semillas se convierte entonces en una etapa adicional para aquellos procesos que pretenden aprovechar de forma integral el fruto de aguacate, lo anterior implica la realización de todas aquellas actividades que incluyen extracción de la semilla, limpieza previa, secado y almacenamiento, de modo que estos residuos agroindustriales se encuentren aptos para su utilización. Normalmente se realizan mediciones prospectivas que incluyen la determinación de contenido de humedad²³⁵, entre otras características que se presenta a continuación:

²³⁵ USDA FOREST SERVICE Y SOUTHERN REGIONAL EXTENSION FORESTRY. Caracterización de las semillas. En: Reforestation, Nurseries, & Resources. [Sitio web]. Estados Unidos: RNGR. [Consultado: 20 mayo 2019]. Archivo PDF. Disponible en: <https://rngr.net/publications/vivero-forestal-produccion-de-plantas-nativas-a-raiz-cubierta/caracterizacion-de-las-plantas>

Imagen 21. Semillas utilizadas en la determinación de las propiedades de los sólidos.



Fuente: elaboración propia.

2.2.3.1 Tamaño semillas de aguacate. Para la determinación del tamaño de partícula, se seleccionaron aleatoriamente 20 semillas de la muestra ya homogenizada, las cuales se dejaron caer sobre una superficie lisa de manera que se posicionaran sobre su eje de mayor longitud. De acuerdo al procedimiento realizado por DURSUN, I., TUGRUL, K.M. y DURSUN, E²³⁶, a cada partícula se le determinaron las dimensiones ortogonales como el largo (eje de mayor longitud), ancho (eje de longitud media) y espesor (eje de menor longitud) utilizando un calibrador vernier o pie de rey tipo marca Mitutoyo con precisión de 0,01 mm.

Las medidas anteriores permitieron calcular el diámetro medio aritmético (Ecuación 1) y medio geométrico (Ecuación 2), mediante las relaciones propuestas por Mohsenin, tal como se muestra a continuación:

Ecuación 1. Diámetro medio aritmético.

$$Da = \frac{(a + b + c)}{3}$$

Fuente: MOHSENIN, Nuri. Physical Characteristics. En: Physical Properties of Plant and Animal Materials. Nueva York: Gordon and Breach Science Publishers. 1970. Citado por: DURSUN, I.; TUGRUL, K.M. y DURSUN, E. Some physical properties of sugarbeet seed [en línea]. En: Journal of Stored Products Research. 2007, vol. 43, no. 2. p. 150. [Consultado: 22 mayo 2019]. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2006.03.001>

Donde:

Dg = Diámetro aritmético (mm)

a = Eje de mayor longitud (mm)

²³⁶ DURSUN, I., TUGRUL, K.M. y DURSUN, E. Some physical properties of sugarbeet seed [en línea]. En: Journal of Stored Products Research. 2007, vol. 43, no. 2. p. 150. [Consultado: 22 mayo 2019]. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2006.03.001>

$b = \text{Eje de longitud media (mm)}$

$c = \text{Eje de menor longitud (mm)}$

Ecuación 2. Diámetro medio geométrico.

$$Dg = (abc)^{1/3}$$

Fuente: MOHSENIN, Nuri. Physical Characteristics. En: Physical Properties of Plant and Animal Materials. Nueva York: Gordon and Breach Science Publishers. 1970. Citado por: DURSUN, I.; TUGRUL, K.M. y DURSUN, E. Some physical properties of sugarbeet seed [en línea]. En: Journal of Stored Products Research. 2007, vol. 43, no. 2. p. 150. [Consultado: 22 mayo 2019]. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2006.03.001>

Donde:

$Dg = \text{Diámetro geométrico (mm)}$

$a = \text{Eje de mayor longitud (mm)}$

$b = \text{Eje de longitud media (mm)}$

$c = \text{Eje de menor longitud (mm)}$

2.2.3.2 Área superficial y esfericidad. Debido a que la determinación del área superficial y la esfericidad dependen de la forma de los granos u semillas²³⁷, se utilizaron las medidas axiales determinadas en el literal anterior, que corresponden al largo, ancho y espesor de la muestra seleccionada. El cálculo de esta propiedad se realizó mediante las siguientes expresiones matemáticas:

Ecuación 3. Área superficial.

$$S = \frac{\pi B a^2}{2a - B}$$

Fuente: JAIN, R.K. y BAL, S. Properties of Pearl Millet. En: Journal of Agricultural and Engineering Research. Citado por MILANI, E., *et al.* Moisture dependent physical properties of cucurbit seeds [en línea]. En: International Agrophysics. Febrero, 2007, vol. 21. p. 159. [Consultado: 23 mayo 2019]. ISSN: 0236-8722.

Donde

$B = (bc)^{0,5} \text{ (cm)}$

$a = \text{Eje de mayor longitud (cm)}$

²³⁷ KIBAR, H.; ÖZTÜRK, T. y ESEN, B. The effect of moisture content on physical and mechanical properties of rice (*Oryza sativa* L.) [en línea]. En: Spanish Journal of Agricultural Research. 2010, vol. 8, no. 3. p. 743. [Consultado: 22 mayo 2019]. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=3278087>

Ecuación 4. Esfericidad.

$$\phi = \frac{(abc)^{1/3}}{a}$$

Fuente: MOHSENIN, Nuri. Physical Characteristics. En: Physical Properties of Plant and Animal Materials. Nueva York: Gordon and Breach Science Publishers. 1970. Citado por: DURSUN, I.; TUGRUL, K.M. y DURSUN, E. Some physical properties of sugarbeet seed [en línea]. En: Journal of Stored Products Research. 2007, vol. 43, no. 2. p. 150. [Consultado 22 mayo 2019]. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2006.03.001>

Donde

Dg = Diámetro geométrico (mm)

a = Eje de mayor longitud (mm)

2.2.3.3 Densidad de partícula. Tal como se mencionó en la sección 1.2.6, esta propiedad representa la relación entre la masa de semilla seleccionada y el volumen sólido ocupado por la misma. Para su determinación, se utilizó el procedimiento propuesto por MOHSENIN, Nuri²³⁸ que utiliza el principio de desplazamiento de líquidos. En este proceso, se pesaron 20 semillas de aguacate utilizando una balanza electrónica digital con precisión de 0,001g. Posteriormente se llenó con agua una probeta de 2000 mL de capacidad hasta alcanzar un volumen inicial; la masa de semillas se adicionó a la probeta con el fin de realizar un desplazamiento del fluido y así determinar el volumen final de la probeta. Los valores medidos, se utilizaron en la siguiente expresión:

Ecuación 5. Densidad.

$$\rho = \frac{m}{v_2 - v_1}$$

Fuente: PANTANO, Laura y URREGO, Aura. Evaluación de la extracción de aceite de semillas de amapola mediante los métodos soxhlet y prensado en frío a nivel laboratorio [en línea]. Tesis para optar al título de Ingeniero Químico. Universidad de América, 2018. [Consultado: 22 mayo 2019]. Disponible en: <http://repository.uamerica.edu.co/handle/20.500.11839/6957>

Donde

ρ = Densidad $\left(\frac{g}{mL}\right)$

m = Masa de las semillas (g)

²³⁸ MOHSENIN, Nuri. Physical Characteristics. En: Physical Properties of Plant and Animal Materials. Nueva York: Gordon and Breach Science Publishers. 1970. Citado por: OKE, B.; KAUL, R. y MITTAL, J. Physical and Mechanical Properties of Sorghum (Sorghum bicolor) Stalk Harvested at Various Intervals After Grain Maturity [en línea]. En: Agricultural Wastes. 1984, vol. 11. p. 34. [Consultado 25 mayo 2019]. Disponible en: [https://doi.org/10.1016/0141-4607\(84\)90053-2](https://doi.org/10.1016/0141-4607(84)90053-2)

$v_2 = \text{Volumen final de la probeta (mL)}$

$v_1 = \text{Volumen inicial de la probeta (mL)}$

2.2.3.4 Factor de forma. La determinación de este parámetro expresa la relación entre el volumen y diámetro de partícula, por lo tanto, fue necesario utilizar el valor del volumen desplazado en el literal anterior (Ecuación 5.) y los diámetros aritméticos (Ecuación 1.) y geométricos (Ecuación 2.) ya calculados.

Ecuación 6. Factor de forma.

$$\lambda = \frac{V_p}{D_p^3}$$

Fuente: PANTANO, Laura y URREGO, Aura. Evaluación de la extracción de aceite de semillas de amapola mediante los métodos soxhlet y prensado en frío a nivel laboratorio [en línea]. Tesis para optar al título de Ingeniero Químico. Universidad de América, 2018. [Consultado: 22 mayo 2019]. Disponible en: <http://repository.uamerica.edu.co/handle/20.500.11839/6957>

Donde

$\lambda = \text{Factor de forma}$

$V_p = \text{Volumen de partícula (cm}^3\text{)}$

$D_p = \text{Diámetro de partícula (cm)}$

2.2.3.5 Densidad aparente aireada. Tal como se expresó en la sección 1.2.6. Esta propiedad corresponde a la densidad sin compactamiento de la muestra, incluyendo los espacios libres presentes entre las partículas. Para su determinación, se empleó el procedimiento descrito por Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, en éste, se pesó una cantidad de semilla de aguacate utilizando una balanza electrónica digital con precisión de 0,001g; en una probeta graduada y seca de capacidad de 2000 mL, se introdujo la cantidad conocida de muestra sin compactar y se procedió a tomar la lectura del volumen aparente. El cálculo de la densidad aparente aireada, se realizó mediante la siguiente expresión:

Ecuación 7. Densidad aparente aireada.

$$\rho_{APA_{air}} = \frac{m}{v_0}$$

Fuente: FARMACOPEDIA DE LOS ESTADOS UNIDOS MEXICANOS. Densidad aparente y densidad compactada en polvos. En: Repositorio, documentos farmacopea [Sitio web]. México: FEUM. [Consultado: 23 mayo 2019]. Archivo pdf. Disponible en: <https://www.farmacopea.org.mx/Repositorio/Documentos/258.pdf>.

Donde

$$\rho_{APA_{air}} = \text{Densidad aparente aireada} \left(\frac{g}{mL} \right)$$

m = Masa de semillas (m)

v_0 = Volumen aireado (mL)

2.2.3.6 Densidad aparente empacada. Tal como se mencionó en la sección 1.2.6, y a diferencia de la densidad aparente aireada; esta propiedad corresponde a la densidad compactada de la muestra sometida a golpes mecánicos. Para su determinación, se empleó el método descrito por Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos al igual que el método anterior. En el procedimiento, se utilizó la probeta con la muestra ya preparada para el ensayo anterior (sección 2.2.3.5), se cubrió la boca de la misma y se levantó a una altura de 10 a 15 cm aproximadamente, para luego impactar la probeta cuidadosamente sobre una superficie plana a ritmo constante, inmediatamente se dispuso a tomar la lectura del nuevo volumen compactado. El cálculo de la densidad aparente empacada se determinó mediante la siguiente expresión:

Ecuación 8. Densidad aparente empacada.

$$\rho_{APA_{emp}} = \frac{m}{v_f}$$

Fuente: FARMACOPEDIA DE LOS ESTADOS UNIDOS MEXICANOS. Densidad aparente y densidad compactada en polvos. En: Repositorio, documentos farmacopea [Sitio web]. México: FEUM. [Consultado: 23 mayo 2019]. Archivo PDF. Disponible en: <https://www.farmacopea.org.mx/Repositorio/Documentos/258.pdf>.

Donde

$$\rho_{APA_{emp}} = \text{Densidad aparente empacada} \left(\frac{g}{mL} \right)$$

m = Masa de semillas (g)

v_f = Volumen empacado (mL)

2.2.3.7 Índice de Compresibilidad. De acuerdo a lo mencionado en la sección 1.2.7, esta propiedad cuantifica la reducción de los espacios vacíos luego que la muestra es sometida a esfuerzos mecánicos. El índice de compresibilidad se calcula a partir de las densidades aireada y empacada ya determinadas anteriormente, la ecuación utilizada para la expresión del porcentaje es la siguiente:

Ecuación 9. Índice de compresibilidad.

$$\% \text{ Compresibilidad} = \frac{(\rho_{APA_{air}} - \rho_{APA_{emp}})}{\rho_{APA_{emp}}} \times 100$$

Fuente: UNITED STATES PHARMACOPEIA, USP. Powder Flow. The United States Pharmacopeia Convention. [Sitio web]. Estados Unidos: USP. [Consultado: 23 mayo 2019]. Archivo pdf. Disponible: en Internet en: https://www.usp.org/sites/default/files/usp/document/harmonization/generic/g05_pf_30_6_2004.pdf

Donde

$\rho_{APA_{air}}$ = Densidad aparente aireada ($\frac{g}{mL}$)

$\rho_{APA_{emp}}$ = Densidad aparente empacada ($\frac{g}{mL}$)

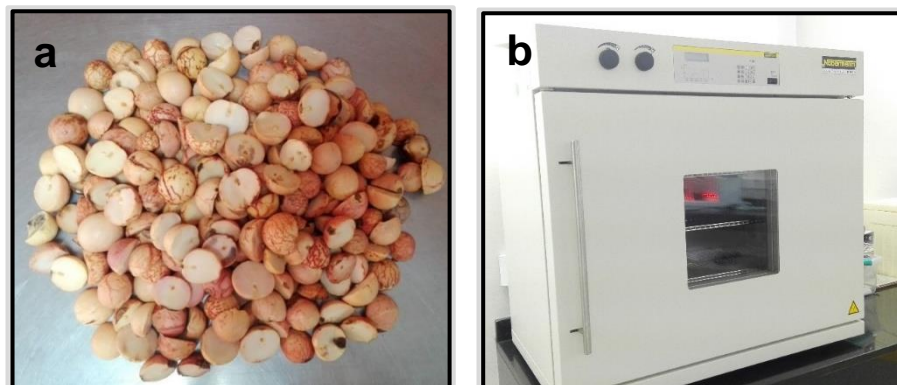
2.2.3.8 Ángulo de reposo. De acuerdo a lo mencionado en la sección 1.2.5, el ángulo de reposo corresponde al ángulo horizontal formado por el apilamiento de los sólidos sobre una superficie homogénea, el valor de esta propiedad determina la fluidez del material de trabajo al considerar la fricción entre las partículas, y por consiguiente su resistencia a moverse.

- Ángulo de reposo dinámico: Para la determinación de esta propiedad, se utilizó el procedimiento descrito por RAMÍREZ, I²³⁹, en el cual una masa de muestra aleatoria se depositó en el centro de un plano inclinado de madera con transportador acoplado para la lectura del ángulo. El plano se inclinó levemente hacia un extremo de manera que las semillas introducidas se deslizaran hacia límite indicado. La lectura se realizó cuando se produjo el deslizamiento de la masa de semillas en conjunto.

2.2.4 Secado de materia prima. Antes de llevar a cabo el proceso de secado se realiza la ruptura de la semilla en dos piezas de forma manual; esta separación se realiza por la abertura natural de la misma, de modo que se evite el fenómeno de oxidación; también se retira la capa externa de las semillas, para favorecer la evaporación de la humedad en su interior. Los experimentos de secado de estas muestras se realizaron utilizando un horno de calentamiento (Nabertherm P330, Alemania) a una temperatura de 50 °C durante 48 h, donde se giraron periódicamente para asegurar un secado uniforme.

²³⁹ RAMÍREZ, Op. cit., p. 2.

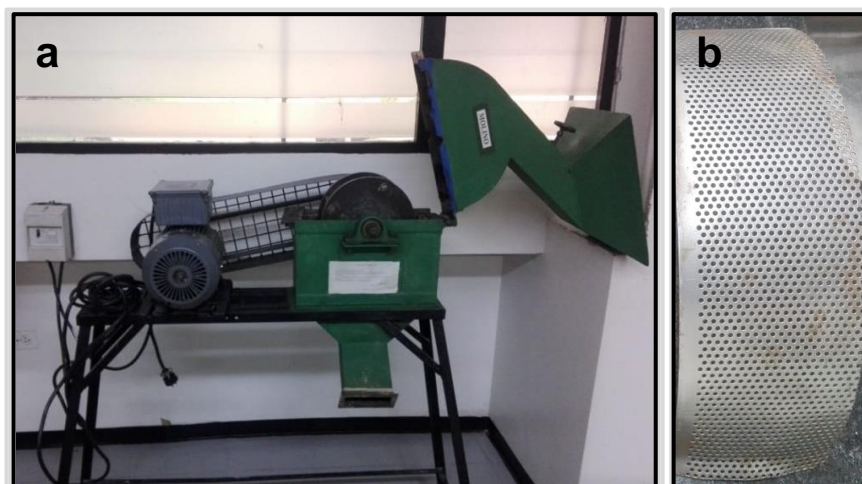
Imagen 22. a) Semillas antes del proceso de secado; b) Horno de calentamiento.



Fuente: elaboración propia.

2.2.5 Molienda. El tamaño de las semillas previamente secadas, se reduce mediante un molino de martillos a escala laboratorio que viene con un motor Siemens de 2 HP. Inicialmente, se introdujo un tamiz con una abertura de 1,7 mm en el molino, luego se pesó una muestra representativa que se agregó a un flujo constante a través de la tolva tomando la precaución de medir el tiempo para determinar la duración del proceso.

Imagen 23. a) Molino de martillos; b) Tamiz.

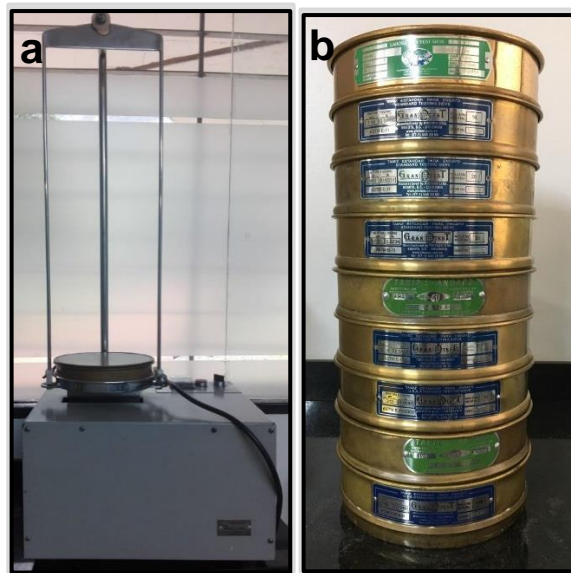


Fuente: elaboración propia.

2.2.6 Tamizado. Las partículas resultantes se tamizaron utilizando un equipo agitador de tamiz PINZUAR Ref. PS-35 ajustado a un ciclo de (5 minutos) para obtener gránulos que se retienen entre el tamiz de malla 12 (1,7 mm) y el tamiz de malla 100 (0.149 mm) durante 50 minutos. Posteriormente se pesó la cantidad de muestra retenida en cada tamiz y de acuerdo a la cantidad de muestra utilizada, se

determinaron las pérdidas de semilla. Las partículas de semilla de aguacate resultante se almacenaron a 4 ° C hasta su uso.

Imagen 24. Agitador de tamiz; b) Torre de tamices.



Fuente: elaboración propia.

2.2.7 Determinación de humedad y materia volátil. Para esta determinación, se utilizaron semillas recién extraídas de la fruta, previamente cortadas a una longitud de 2 mm y semillas después de haber pasado el proceso de molienda y tamizado con la misma longitud de partícula. Posteriormente se colocaron cantidades de aproximadamente 5 g de muestra en una cápsula desecada y luego se transfirieron a una mufla a 103 °C durante 3 horas siguiendo el procedimiento de la norma NTC 2228²⁴⁰. La cápsula se retiró del horno y se enfrió a temperatura ambiente en un desecador antes de pesar. El procedimiento descrito anteriormente se repitió cada hora hasta que la diferencia entre dos pesadas consecutivas sea igual o menor que 0.005 g.

Ecuación 10. Contenido de humedad y materia volátil.

$$\% \text{ Humedad y materia volátil} = \frac{m_1 - m_2}{m_1 - M_0} \times 100$$

Fuente: INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS Y CERTIFICACIÓN. Oleaginosas. Determinación del contenido de Humedad y Materia Volátil. NTC 2228. Bogotá D.C.; El instituto, 1986p. 3.

²⁴⁰ INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS Y CERTIFICACIÓN. Oleaginosas. Determinación del contenido de Humedad y Materia Volátil. NTC 2228. Bogotá D.C.; El instituto, 1986. p. 1-4

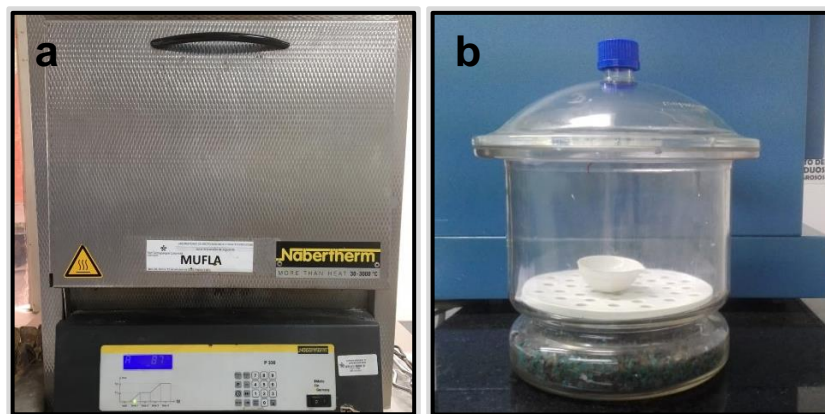
Donde

M_0 = masa del vaso en gramos

m_1 = masa del vaso en gramos y la muestra antes de secada

m_2 = masa del vaso en gramos y la muestra después del secado

Imagen 25. a) Mufla; b) Desecador.



Fuente: elaboración propia.

2.2.8 Extracción por hidrodestilación asistida por microondas. Al emplear MAHD, utilizamos un horno de microondas doméstico (AME0113MB, SAMSUNG), el cual tiene una frecuencia de 2450 MHz con una potencia máxima de 1050 W. Las dimensiones de la cavidad recubierta con politetrafluoroetileno (PTFE), fueron 51,8 cm (Ancho) x 29,7 cm (Alto) x 38,6 cm (Fondo), el cual se modificó perforando un agujero en la parte superior.

Para la extracción por esta técnica, se colocó una muestra según la relación soluto/solvente establecida en los parámetros de selección, en un balón de destilación de fondo plano con una capacidad de 2000 mL. Posteriormente se conectó a través del orificio con un equipo de destilación tipo Clevenger que al mismo tiempo está conectado en línea a un condensador de bolas; ubicados en la parte superior, fuera de la cavidad del microondas. El sistema de enfriamiento condensó continuamente el destilado y el aceite esencial se recogió en la trampa del aparato Clevenger, luego, el orificio se cerró para evitar cualquier pérdida de calor en el interior. Las fracciones de líquido de recogieron en un Erlenmeyer para estudiar y caracterizar el producto.

Imagen 26. Equipo de hidrodestilación asistida por microondas.



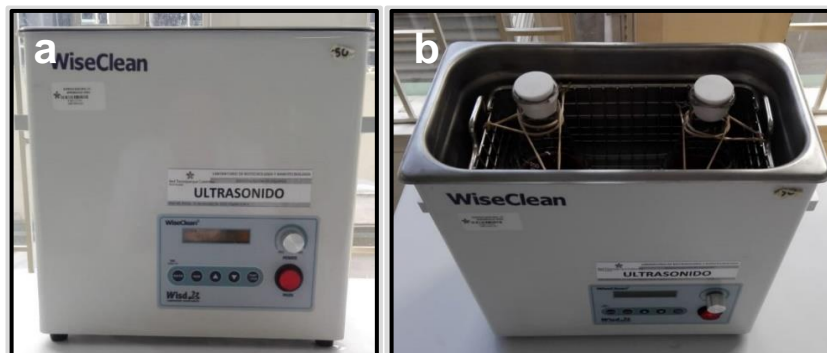
Fuente: elaboración propia.

2.2.9 Extracción por ultrasonido. Para la extracción de aceite por esta metodología, se empleó un baño ultrasónico marca WiseClean con frecuencia de 40kHz, salida ultrasónica de 150 W y 6L de capacidad.

Las muestras se depositaron en un Erlenmeyer de 250 mL de capacidad, se taparon con corchos e introdujeron en el equipo, finalmente se sujetaron con bandas elásticas de modo que se garantizara que los recipientes utilizados quedaran sumergidos en el baño, y que por lo tanto el contacto con las ondas ultrasónicas fuera el adecuado en el medio acuoso. Los ensayos se realizaron por triplicado de acuerdo a las condiciones establecidas en la selección de parámetros.

Después de terminado el tiempo del experimento, las muestras se rotavaporaron a 80°C, 175 mbar y 60 RPM, de manera que se eliminara por evaporación la máxima cantidad posible de solvente. Las fracciones de líquido restante se introdujeron en probetas de 10 mL, y se dejaron decantar de tal forma que pudiera observarse si existía separación aparente de fase oleosa. El rendimiento de la extracción por ultrasonido se expresó como porcentaje respecto a la cantidad de semilla molida utilizada.

Imagen 27. a) y b) Equipo de ultrasonido.



Fuente: elaboración propia.

2.2.10 Extracción por Soxhlet. Las extracciones por el método soxhlet se realizaron con la relación soluto/solvente establecida en los parámetros de selección, la muestra molida se introduce en un dedal hecho de papel filtro. El aparato Soxhlet de 100 mL de capacidad, se equipó con un condensador de bolas y se colocó en un balón de destilación de fondo plano de 500 mL de capacidad, el cual contenía 250 ml de disolvente. Las muestras se extrajeron mediante reflujo durante 6 h a una velocidad de 2 a 3 gotas por segundo. Después de la extracción, se eliminó la máxima cantidad posible de disolvente, mediante un rotavaporador marca Heidolph, durante un periodo de 25 minutos y una temperatura de 80 °C. Los extractos resultantes, se colocaron en una estufa de calentamiento a una temperatura máxima de 70°C, de modo que se eliminaran las trazas restantes de solvente y que por lo tanto se concentrara el aceite obtenido.

Imagen 28. Equipo Soxhlet.



Fuente: elaboración propia.

2.2.11 Rendimiento. Las extracciones realizadas, independientemente del procedimiento de extracción utilizado, se replicaron al menos tres veces para obtener reproducibilidad en los hallazgos experimentales y se informaron los valores en términos de rendimiento. El rendimiento del aceite extraído se expresó como un porcentaje del peso del aceite obtenido después de la extracción en relación con el peso de la muestra seca utilizada para la extracción, como se describe a continuación:

Ecuación 11. Rendimiento de aceite.

$$\% \text{ Aceite} = \frac{\text{Peso del aceite obtenido después de la extracción}}{\text{Peso de la semilla molida}} \times 100$$

Fuente: VIROT, Matthieu., *et al.* Green procedure with a green solvent for fats and oils' determination Microwave-integrated Soxhlet using limonene followed by microwave Clevenger distillation [en línea]. En: Journal of Chromatography A. Julio, 2008, vol. 1196-1197, p. 147-152. [Consultado: 11 de febrero de 2019]. DOI: 10.1016/j.chroma.2008.04.035.

2.2.12 Caracterización del aceite de aguacate. Esta sección tiene como objetivo determinar las características fisicoquímicas en el aceite extraído de las semillas de aguacate Persea americana Mill. Var. Hass.

2.2.12.1 Densidad. Para la determinación de la densidad de acuerdo a la NTC 336²⁴¹, se utilizó un picnómetro Gay-Lussac previamente calibrado. Inicialmente éste se pesó vacío, luego, se llenó con la muestra de ensayo y se tapó con el tapón esmerilado teniendo la precaución de no encerrar burbujas de aire, posteriormente, el picnómetro se sumergió por un periodo de 2 horas en un baño de maría a una temperatura determinada, siguiendo las especificaciones de la norma. La muestra fluyó y se llevó al límite, se limpió el exceso de la salida cónica en el instrumento y se registró la temperatura.

Se removió el picnómetro del baño de agua y se limpió cuidadosamente para luego llevarlo a temperatura ambiente. Finalmente, se pesó el picnómetro lleno con el tapón esmerilado. El cálculo de la densidad se realizó mediante la siguiente expresión:

Ecuación 12. Densidad relativa.

$$\rho_{\theta} = \frac{m_3 - m_1}{V_d} + k(\theta_d - \theta)$$

Fuente: INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS Y CERTIFICACIÓN. Grasas y Aceites Vegetales y Animales. Método de la determinación de la densidad (Masa por volumen convencional). NTC 336. Bogotá D.C.; El instituto, 2002p. 6.

²⁴¹ INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS Y CERTIFICACIÓN. Grasas y Aceites Vegetales y Animales. Método de la determinación de la densidad (Masa por volumen convencional). NTC 336. Bogotá D.C.; El instituto, 2002. p. 1-14

Donde m_1 es la masa en gramos del picnómetro vacío incluido el tapón esmerilado, m_3 corresponde a la masa en gramos del picnómetro lleno con la muestra incluyendo el tapón esmerilado, θ_d equivale a la temperatura en grados Celsius a la cual fue realizada la prueba, V_d corresponde al volumen en mililitros del picnómetro a la temperatura θ_d , θ equivale a la temperatura en grados Celsius a la cual se quiere determinar la densidad convencional y k corresponde a el valor de 0,00068 g/mL°C.

2.2.12.2 Índice de refracción. Para la determinación de este índice se utilizó un refractómetro digital de marca SPER SCIENTIFIC, modelo 300034 a 20°C. Para que el equipo operara correctamente, se realizó una calibración con agua destilada de manera que el valor arrojado, coincidiera con el índice de refracción del blanco utilizado. Posteriormente, se adicionó la muestra de aceite verificando que el lente óptico del equipo quedara completamente cubierto y se dispuso entonces a tomar la lectura de la muestra oleosa.

2.2.12.3 Índice de saponificación. Según la NTC 335²⁴², para poder determinar el índice de saponificación es necesario una reacción química de KOH 0,5 M con Etanol al 95% (v/v). Inicialmente se pesaron 2 g de la muestra de ensayo en un balón esmerilado de fondo plano, se agregaron 25 mL de la solución etanólica de KOH y algunas ayudas de ebullición. El balón se ubicó sobre un dispositivo de calentamiento y se conectó a un condensador de reflujo. Después de realizado el montaje, se dejó ebullicir ligeramente por 1 a 2 horas agitando esporádicamente.

Después se añadió 0.5 a 1 mL de fenolftaleína para su posterior titulación con HCl 0,5 M, siguiendo las especificaciones de esta norma. El valor se reportó como el número de mg de KOH necesarios para saponificar 1 g de aceite usando la ecuación 13, donde V_0 es el volumen en mL de HCl para el ensayo del blanco, V_1 es el volumen en mL de HCl que se usa para la determinación del aceite, c es la concentración en moles/L de HCl, m es la masa en gramos de la muestra de ensayo y el número 56,1 es la masa molar del KOH.

Ecuación 13. Índice de saponificación.

$$I_s = \frac{(V_0 - V_1)(c)(56,1)}{m}$$

Fuente: INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS Y CERTIFICACIÓN. Grasas y Aceites Vegetales y Animales. Determinación del Índice de saponificación. NTC 335. Bogotá D.C.; El instituto, 1998. p. 4.

²⁴² INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS Y CERTIFICACIÓN. Grasas y Aceites Vegetales y Animales. Determinación del Índice de saponificación. NTC 335. Bogotá D.C.; El instituto, 1998. p. 1-5

2.2.12.4 Índice de yodo. De acuerdo con la información proporcionada por la NTC 283²⁴³, se tomó la muestra y el volumen del solvente conforme al índice de yodo esperado que esta entre 75-94, según los valores que indica la tabla 6. Una vez pesada la muestra de aceite en el erlenmeyer de 500 mL, se agregó la cantidad de solvente que se estableció con anterioridad; luego se adicionaron 20 ml de reactivo de Wijs utilizando una pipeta de esta capacidad. Posteriormente el erlenmeyer se cerró con un tapón de caucho para luego agitar con movimientos circulares y dejar reposar en un lugar oscuro durante 1 hora. Este mismo procedimiento se llevó a cabo con el blanco omitiendo la porción de la muestra, siguiendo las especificaciones de esta norma.

Tabla 6. Masa de la porción para ensayo.

Índice de yodo esperado (g/100g)	Masa de la porción de ensayo (g)	Volumen de solvente (mL)
< 1,5	15,00	25
1,5 a < 2,5	10,00	25
2,5 a < 5	3,00	20
5 a < 20	1,00	20
20 a < 50	0,40	20
50 a < 100	0,20	20
100 a < 150	0,13	20
150 a < 200	0,10	20

Fuente: INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS Y CERTIFICACIÓN. Grasas y Aceites Vegetales y Animales. Determinación del Índice de Yodo. NTC 283. Bogotá D.C.; El instituto, 2012. p. 4.

Al finalizar el tiempo de reacción se agregaron 20 mL de yoduro de potasio, así como 150 mL de agua para su posterior titulación con tiosulfato de sodio 0,1 N. El valor se reportó como el número de mg de yodo absorbidos por cada 100 g de muestra y se determinó con la ecuación 14, donde c es la concentración de la solución de tiosulfato de sodio, V_1 es el volumen en mL de tiosulfato de sodio empleado en el blanco, V_2 es el volumen de tiosulfato de sodio usado para la determinación y m es la masa en gramos de la porción de ensayo.

Esta reacción es de tipo redox, presenta cambio de 2 electrones
 $PM I_2 = 254 \text{ g} / 2 = 127 \text{ g} / 2 = 127 \text{ g} / 2 \text{ eq} = 0.127 \text{ g/meq}$

Ecuación 14. Índice de Yodo.

$$VI = \frac{(12,69)(c)(V_1 - V_2)}{m}$$

Fuente: INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS Y CERTIFICACIÓN. Grasas y Aceites Vegetales y Animales. Determinación del Índice de Yodo. NTC 283. Bogotá D.C.; El instituto, 2012. p. 5.

²⁴³ INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS Y CERTIFICACIÓN. Grasas y Aceites Vegetales y Animales. Determinación del Índice de Yodo. NTC 283. Bogotá D.C.; El instituto, 2012. p. 1-12

2.2.12.5 Índice de peróxidos. Conforme a la NTC 236²⁴⁴, en primera instancia se procedió a verificar que el erlenmeyer de 250 mL de capacidad estuviese limpio y seco. Según los valores de peróxido esperados (entre 1 y 30), se procedió a pesar 5.0 g de la muestra de ensayo. Posteriormente, se adicionaron 30 mL de solución ácido acético/cloroformo con una relación 3:2 y 0,5 mL de solución de yoduro de potasio. Luego de realizado este proceso, la muestra se agitó teniendo la precaución de no generar vórtices grandes y se mantuvo en reposo por un minuto conservando una temperatura entre 15 a 25°C. Inmediatamente se agregaron 20 mL de agua destilada.

Después, se procedió a titular con tiosulfato de sodio 0.01N, empleando almidón como indicador. Este mismo procedimiento se llevó a cabo con el blanco omitiendo la porción de la muestra, siguiendo las especificaciones de esta norma. El valor se reportó como mEq de O_2 por kg de muestra y se determinó con la ecuación 15, donde V es el volumen en mL de la solución de tiosulfato de sodio consumido en el ensayo de aceite, V_0 es el volumen en mL de la solución de tiosulfato de sodio consumido para el blanco, c es la concentración de tiosulfato de sodio y m es la masa en gramos de la porción de ensayo.

Ecuación 15. Índice de Peróxido.

$$VP = \frac{(V - V_0)(c)(1000)}{m}$$

Fuente: INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS Y CERTIFICACIÓN. Grasas y Aceites Vegetales y Animales. Determinación del Índice de Peróxido NTC 236. Bogotá D.C.; El instituto, 2011.p. 6.

2.2.12.6 Índice de acidez. De acuerdo con la NTC 218²⁴⁵, para determinar el índice de acidez se empleó el método de referencia, para ello se pesó una masa de muestra según el porcentaje de acidez esperado para aceites vegetales crudos conforme lo indica la tabla 7. Simultáneamente en un erlenmeyer se calentaron 50 mL de la mezcla éter etílico – etanol en una relación 1:1 (v/v) y 0.5 mL de fenolftaleína hasta ebullición. Se procedió a neutralizar el etanol por medio de una titulación con la solución de KOH de 0.1 mol/L (asegurando que la temperatura del etanol estuviese sobre los 70 °C), hasta que se presente un cambio de color ligero y definitivo de por lo menos 15 s con la adición de una gota de álcali.

²⁴⁴ INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS Y CERTIFICACIÓN. Grasas y Aceites Vegetales y Animales. Determinación del Índice de Peróxido NTC 236. Bogotá D.C.; El instituto, 2011. p. 1-12

²⁴⁵ INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS Y CERTIFICACIÓN. Grasas y Aceites Vegetales y Animales. Determinación del Índice de Acidez. NTC 218. Bogotá D.C.; El instituto, 2011. p. 1-15

Tabla 7. Masas para las porciones de ensayo y concentraciones de álcali.

Grupo de productos	Valor ácido aproximado	Masa de la porción para ensayo (g)	Concentración de KOH (mol/L)	Exactitud del pesaje de la porción para ensayo (g)
Aceites vegetales refinados	0 a 1	20	0,1	0,05
Grasas animales				
Aceites vegetales crudos	1 a 4	10	0,1	0,02
Grasas animales con grado técnico	4 a 15	2,5	0,1	0,01
Ácidos grasos madre para jabón	15 a 75	0,5 3,0	0,1 0,5	0,001
Ácidos grasos técnicos (destilados)	>75	0,2 1,0	0,1 0,5	0,001

Fuente: INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS Y CERTIFICACIÓN. Grasas y Aceites Vegetales y Animales. Determinación del Índice de Acidez. NTC 218. Bogotá D.C.; El instituto, 2011. p. 4.

Una vez finalizada la titulación se adicionó el etanol neutralizado a la muestra de aceite y se mezclaron, para posteriormente realizar nuevamente el proceso de titulación con KOH de 0.1 M siguiendo las especificaciones de esta norma. El valor se reportó como los mg de KOH necesarios para neutralizar 1 g de aceite y se determinó mediante la ecuación 16, donde V es volumen en mL gastado en la titulación de la solución de KOH, c es la concentración de la solución de KOH, m es la masa en gramos de la muestra y el número 56,1 es la masa molar del KOH.

Ecuación 16. Índice de Acidez.

$$I_a = \frac{(56.1)(V)(c)}{m}$$

Fuente: INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS Y CERTIFICACIÓN. Grasas y Aceites Vegetales y Animales. Determinación del Índice de Acidez. NTC 218. Bogotá D.C.; El instituto, 2011. p. 6.

2.2.12.7 Determinación de la materia insaponificable. De acuerdo con la NTC 235-2²⁴⁶ para la determinación de la materia insaponificable, se realizó inicialmente un proceso de saponificación utilizando hidróxido de potasio (KOH) y 5 g de muestra en un balón de 250 mL de capacidad, acoplado a un condensador de reflujo. La solución se dejó en ebullición durante un periodo de 1 hora, para posteriormente agregarle por la parte superior del condensador 50 mL de agua. El balón se sometió a agitación y enfriamiento.

²⁴⁶ INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS Y CERTIFICACIÓN. Grasas y Aceites Vegetales y Animales. Determinación de la materia insaponificable - Método de extracción con hexano NTC 235-2. Bogotá D.C.; El instituto, 2002. p. 1-9

Posteriormente para la extracción de la materia insaponificable, se transfiere la mezcla a un embudo de separación de 250 mL; el balón utilizado se lavó con 50 ml de hexano, cantidad que después se vertió en el embudo, este último, se tapó y agitó vigorosamente asegurándose de liberar presión en el mismo. La solución se dejó reposar hasta evidenciar una separación de fases, luego, se separó la parte inferior (fase acuosa) depositándola en un segundo embudo de separación, al cual se le agregaron 50 mL más de hexano, el proceso se repitió una tercera vez y se recogieron los tres extractos de n-hexano en un embudo de separación adicional.

Los extractos agrupados, se lavaron utilizando porciones de 25 mL de etanol, asegurándose de decantar la solución etanólica luego de cada lavada de acuerdo a las especificaciones de la norma, el proceso se repitió hasta que los enjuagues no presentaran una tonalidad rosada luego de la adición de una gota de la solución de fenolftaleína. Posteriormente, se transfirió la solución a un balón de 250 mL secado de manera previa a una temperatura de 103°C, y pesado según el procedimiento que describe la norma, finalmente se dejó evaporar el solvente utilizando un baño de agua hirviendo. El residuo resultante también se sometió a un proceso de secado, utilizando la misma temperatura durante periodos de 15 minutos según la descripción de la norma, finalmente se tomó el peso del balón hasta que no se presentaran variaciones significativas entre las mediciones.

Después de pesar el residuo, éste se disolvió en 4 mL de hexano y luego se adicionó 20 mL de etanol neutralizado anticipadamente, hasta obtener una tonalidad rosada tenue con la adición de una gota de solución de fenolftaleína. La mezcla realizada, se titula con solución etanólica volumétrica estándar de hidróxido de potasio 0,1 mol/L hasta obtener un color idéntico al final.

El procedimiento descrito se repitió nuevamente, con el fin de realizar un ensayo para el blanco omitiendo la porción de ensayo. El cálculo de los resultados se realizó utilizando la siguiente ecuación:

Ecuación 17. Determinación de Materia insaponificable.

$$\text{Contenido de materia insaponificable} = \frac{100(m_1 - m_2 - m_3)}{m_0}$$

Fuente: INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS Y CERTIFICACIÓN. Grasas y Aceites Vegetales y Animales. Determinación de la materia insaponificable - Método de extracción con hexano NTC 235-2. Bogotá D.C.; El instituto, 2002. p. 4.

Donde m_0 corresponde a la masa en gramos de la porción de ensayo, m_1 equivale a la masa en gramos del residuo, m_2 corresponde a la masa en gramos del residuo obtenido con el blanco y m_3 equivale a la expresión $0,28Vc$, donde V representa el volumen en mililitros de la solución etanólica volumétrica estándar de KOH utilizada en la titulación, y c simboliza la concentración exacta en mol/L de la solución etanólica volumétrica de KOH.

2.3 PRUEBA DE LIEBERMANN-BURCHARD

La aplicación de esta prueba se realizó en tres muestras diferentes: extracto etanolico, aceite y materia insaponificable. Para esto se tomaron tres tubos de ensayo, se verificó previamente que estos se encontraran limpios y secos. Se mezcló en cada tubo, 1 mL de anhídrido acético con 1 mL de cloroformo, y se agregó cuidadosamente por las paredes, una o dos gotas de ácido sulfúrico concentrado inclinando el tubo hacia delante con el fin de prevenir salpicaduras. Posteriormente una cantidad conocida de extracto orgánico o muestra se puso en contacto con la solución clorofórmica preparada, se esperó un momento y se observó el efecto producido. Se considera un resultado positivo si bajo las condiciones operadas, aparecen manchas en cualquier tonalidad del rojo, azul o verde²⁴⁷.

2.4 SELECCIÓN DE PARÁMETROS – SEPARACIÓN DE FITOESTEROLES

Los fitoesteroles son compuestos bioactivos con función estructural, que estabilizan las bicapas lipídicas en membranas vegetales tal como lo hace el colesterol en las membranas de naturaleza animal; característicos por sus propiedades antitumorales, antiinflamatorias, fungicidas y bactericidas²⁴⁸ (tal como se mencionó en la sección 1.3.6), pero especialmente por su efecto hipocolesterolemiante capaz de reducir el colesterol de baja densidad LDL (1 - 12%) cuando su ingesta diaria equivale a 1,5 a 3 g²⁴⁹.

Pese a la disponibilidad de productos alimenticios que poseen esteroides vegetales, para numerosos consumidores no es sencillo lograr el nivel de ingesta mencionado²⁵⁰, se estima que el consumo diario de fitoesteroides varía entre 0.16 y 0.5 g por día (estas cantidades no son suficientes para lograr acciones beneficiosas sobre el organismo)²⁵¹, por lo cual, el interés por su extracción y separación ha aumentado considerablemente, pues estos compuestos pueden adicionarse en diversos alimentos o suplementos dietéticos²⁵². Sumado a lo anterior, los efectos benéficos de los esteroides sobre la salud, han provocado su estudio y cuantificación en diversos frutos o semillas, específicamente en la fracción del aceite de los mismos, pues es donde se encuentran mayoritariamente los fitoquímicos²⁵³. Es

²⁴⁷ MONTEALEGRE, Op. cit., p. 41.

²⁴⁸ AGUIRRE, Op. cit., p. 3.

²⁴⁹ MENÉNDEZ, María; KNOL, Diny y JANSSEN, Hans. Development and validation of methodologies for the quantification of phytosterols and phytosterol oxidation products in cooked and baked food products [en línea]. En: Journal of Chromatography A. Enero, 2016, vol. 1428, p. 316. [Consultado: 04 julio 2019]. ISSN: 0021-9673. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2015.09.073>

²⁵⁰ Ibid., p. 1

²⁵¹ SILVA. Op. Cit., p. 17

²⁵² SRIGLEY, Cynthia y HAILE, Ermias. Quantification of plant sterols/stanols in foods and dietary supplements containing added phytosterols [en línea]. En: Journal of Food Composition and Analysis. Junio, 2015, vol. 40, p. 163. [Consultado 4 julio 2019]. ISSN: 0889-1575. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2015.01.008>

²⁵³ DA COSTA, Op. cit., p. 1604.

necesario mencionar, que las condiciones de cultivo y manejo de las fuentes agronómicas utilizadas en este proceso, afectan la cantidad de fitoesteroles²⁵⁴.

La selección de parámetros en esta sección, se fundamenta en la búsqueda bibliográfica de diversos documentos, de modo que pueda conocerse y agruparse las condiciones utilizadas para la separación y determinación de estos compuestos bioactivos a partir de la sustancia grasa extraída de diversas especies o muestras tratadas previamente, los artículos encontrados se presentan a continuación.

Cuadro 10. Condiciones de operación para la separación y determinación de fitoesteroles.

#	Artículo		Pais/Año
	Título	Autor	
40	Estudio de la fracción insaponificable obtenida del aceite extraído de la semilla de la <i>luffa cylindrica</i>	FERNANDEZ, Juliana y ARCILA, Luisa.	Colombia
			2008
41	Phytosterols and tocopherols content of pulps and nuts of Brazilian fruits	Da COSTA, PAULO et al.	Brasil
			2010
42	Effect of pretreatment with microwaves on oxidative stability and nutraceuticals content of oil from rapeseed	AZADMARD, Sodeif et al.	Iran
			2010
43	Cuantificación de fitoesteroles en residuos industriales derivados de la molienda húmeda de maíz	HERNÁNDEZ, R. et al.	México
			2011
44	Obtención y caracterización del aceite de las semillas de vitis labrusca L. (uva isabella) y evaluación de su actividad antioxidante	TORO, Natalia y SUÁREZ, Liseth.	Colombia
			2012
45	Estandarización de la técnica cromatografía de gases capilar para la identificación y cuantificación de fitoesteroles en semillas de <i>luffa cylindrica</i>	ARIAS, Andrés y GIL, Diana.	Colombia
			2012

²⁵⁴ SILVA. Op. Cit., p. 17

Cuadro 10. (Continuación).

#	Artículo		Pais/Año
	Título	Autor	
46	Determinación de compuestos fenólicos, carotenoides, fitoesteroles, tocoferoles, ácidos grasos y capacidad antioxidante en aceites extraídos de semillas de dieciséis accesiones de <i>plukenetia volubilis</i> L. (sacha inchi)	TALAVERANO, Alagón.	Perú
			2012
47	Evaluación de fitoesteroles en aceites de semillas de girasol modificadas genéticamente	AGUIRRE, Marta.	España
			2012
48	Quantification of plant sterols/stanols in foods and dietary supplements containing added phytosterols	SRIGLEY, Cynthia y HAILE, Ermias.	Estados Unidos
			2015
49	Development and validation of methodologies for the quantification of phytosterols and phytosterol oxidation products in cooked and baked food products	MENÉNDEZ, María, KNOL, Diny y JANSSEN, Hans.	Holanda
			2016
50	Caracterización fisicoquímica de diferentes variedades de aguacate, <i>Persea americana</i> Mill. (Lauraceae) e implementación de un método de extracción del aceite de aguacate como alternativa de industrialización	ROBAYO, Angie.	Colombia
			2016
51	Análisis de fitoesteroles en la semilla de <i>Persea americana</i> miller (var. lorená) por cromatografía de gases y cromatografía líquida de alta eficiencia	BARRERA, Rosa y ARRUBLA, Juan.	Colombia
			2017
52	Quantitative determination of free and esterified phytosterol profile in nuts and seeds commonly consumed in China by SPE/GC–MS	WANG, Mengmeng et al.	China
			2019

Fuente: elaboración propia.

Para los artículos mencionados en la tabla anterior, se realizó una agrupación de los parámetros cromatográficos utilizadas en la determinación y cuantificación de fitoesteroles utilizando detectores de espectrometría de masas (MS) e ionización de llama (FID). Las condiciones utilizadas para la separación de fitoesteroles incluyen

saponificación alcalina, derivatización y cuantificación cromatográfica²⁵⁵. Los datos de estos procesos se describen en la contextualización de cada artículo, mientras que los parámetros utilizados en la cromatografía, se presentan a continuación:

Cuadro 11. Condiciones de operación para la determinación y cuantificación de fitoesteroles, utilizando como detector espectrometría de masas (MS).

#	Condiciones cromatográficas		
	Parte	Especificación	Condición
40	Cromatógrafo de gases	Shimadzu	QP2010
	Fase móvil	Gas transportador	Helio
		Flujo total	6.4 mL/min
	Inyector	Temperatura	310 °C
		Volumen	1.0 µL
		Modo	Split
	Programación del horno	Temperatura 1	150 °C
		Tiempo de calentamiento 1	2 min
		Rata	8 °C/min
		Temperatura 2	320 °C
		Tiempo de calentamiento 2	6 min
Columna Rtx-5sil MS Crossbond	Longitud	30 m	
	Diámetro interno	0,25 mm	
Detector MS	Temperatura	260 °C	
44	Cromatógrafo de gases	Shimadzu	QP2010
	Fase móvil	Gas transportador	Helio
		Flujo total	0.7 mL/min
	Inyector	Temperatura	310 °C
		Volumen	1.0 µL
		Modo	Split
	Programación del horno	Temperatura 1	150 °C
		Tiempo de calentamiento 1	2 min
		Rata	8 °C/min
		Temperatura 2	320 °C
		Tiempo de calentamiento 2	6 min
Columna Rtx-5sil MS Crossbond	Longitud	30 m	
	Diámetro interno	0,25 mm	
	Espesor de película	0.25 µm	

²⁵⁵ ISLAM, M.A, *et al.* Phytosterol Determination and Method Validation for Selected nuts and Seeds [en línea]. *En: Food Analytical Methods*. Octubre, 2017, vol. 10. p. 3225-3226. [Consultado: 03 mayo 2019]. DOI: 10.1007/s12161-017-0877-3.

Cuadro 11. (Continuación).

#	Condiciones cromatográficas		
	Parte	Especificación	Condición
48	Cromatógrafo de gases	Agilent Technologies	GC 6890N
	Fase móvil	Gas transportador	Helio
		Flujo total	1 mL/min
	Inyector	Temperatura	No Reporta
		Volumen	1 µL
		Modo	Split
	Programación del horno	Temperatura 1	250 °C
		Tiempo de calentamiento 1	60 min
		Rata	15 °C/min
		Temperatura 2	265 °C
		Tiempo de calentamiento 2	5 min
		Temperatura 3	250 °C
	Columna SE-54	Tiempo de calentamiento 3	3 min
Longitud		30 m	
Diámetro interno		0,32 mm	
Detector MS	Espesor de película	0,25 µm	
	Temperatura	290 °C	
49	Cromatógrafo de gases	Agilent Technologies	GC 6890N
	Fase móvil	Gas transportador	Helio
		Flujo total	1.7 mL/min
	Inyector	Temperatura	300 °C
		Volumen	1.0 µL
		Modo	Split
	Programación del horno	Temperatura 1	120 °C
		Tiempo de calentamiento 1	0,5 min
		Temperatura 2	260 °C
		Rata 1	20 °C/min
		Temperatura 3	300 °C
		Tiempo de calentamiento 3	2,5 min
	Columna CP-Sil-13CB	Rata 2	2 °C/min
Longitud		25 m	
Diámetro interno		0,25 mm	
Detector MS	Espesor de película	0.25 µm	
	Temperatura	200 °C	

Cuadro 11. (Continuación).

#	Condiciones cromatográficas		
	Parte	Especificación	Condición
50	Cromatógrafo de gases	Agilent Technologies	7890B
	Fase móvil	Gas transportador	No Reporta
		Flujo total	
	Inyector	Temperatura	
		Volumen	
	Programación del horno	Temperatura 1	200 °C
		Rata 1	10 °C/min
		Temperatura 2	275 °C
		Rata 2	0,3 °C/min
		Temperatura 3	280 °C
		Tiempo de calentamiento 3	0,833 min
		Rata 3	10 °C/min
		Temperatura 4	300 °C
	Columna HP-5	Longitud	30 m
Diámetro interno		250 µm	
	Espesor de película	0,25 µm	
Detector MS	Temperatura	No Reporta	
51	Cromatógrafo de gases	Agilent Technologies	7890
	Fase móvil	Gas transportador	Helio
		Flujo total	65 mL/min
	Inyector	Temperatura	250 °C
		Volumen	5 µL
		Modo	Split
	Programación del horno	Temperatura 1	50 °C
		Tiempo de calentamiento 1	1 min
		Rata 1	25 °C/min
		Temperatura 2	125 °C
		Rata 2	10 °C/min
		Temperatura 3	300 °C
	Tiempo de calentamiento 3	7 min	
	Columna DB-5MS	Longitud	60 m
Diámetro interno		320 µm	
Espesor de película		0,25 µm	
Detector MS	Temperatura	No Reporta	

Cuadro 11. (Continuación).

#	Condiciones cromatográficas		
	Parte	Especificación	Condición
52	Cromatógrafo de gases	Agilent Technologies	No Reporta
	Fase móvil	Gas transportador	Nitrógeno
		Flujo total	1,6 mL/min
	Inyector	Temperatura	250 °C y 300 °C
		Volumen	No Reporta
		Modo	Split
	Programación del horno	Temperatura 1	180 °C
		Tiempo de calentamiento 1	1 min
		Rata	40 °C/min
		Temperatura 2	290 °C
		Tiempo de calentamiento 2	10 min
	Columna DB-5MS	Longitud	30 m
		Diámetro interno	0,25 mm
		Espesor de película	0,25 µm
Detector MS	Temperatura	No Reporta	

Fuente: elaboración propia.

Respecto al artículo No. 40, los autores FERNANDEZ, Juliana y ARCILA, Luisa²⁵⁶; caracterizaron la materia insaponificable del aceite extraído de las semillas de la *Luffa Cylindrica* según la NTC 235-2, por lo que la muestra pasó primero por un tratamiento previo de limpieza y molienda. Para la extracción del aceite, se utilizó el método Soxhlet empleando n-hexano como disolvente, con una relación M:S 1:5 durante un periodo de tiempo equivalente a 2 horas; el artículo reporta un porcentaje de extracción equivalente al 17.8%. Adicionalmente, en el documento se menciona que los autores separaron la materia insaponificable del aceite extraído mediante la norma ICONTEC 253-2, obteniendo un contenido del 38.6%; El proceso fue seguido de la separación de la fracción de fitoesteroles mediante extracción en fase sólida (EFS) utilizando columnas de silica gel acondicionadas previamente con 4 mL de hexano, en este proceso, también se estudiaron dos sistemas de elución: Hexano-Diclorometano y Hexano-Acetato de Etilo, las fracciones obtenidas por los sistemas se evaluaron mediante la implementación de cromatografía de capa delgada; los autores concluyen que el primer sistema permite la separación de fitoesteroles. Finalmente, en el documento se reporta la caracterización de la fracción de fitoesteroles mediante un GC-MS, encontrando como compuestos principales el 10.96% de Lanosterol y el 15.06% de Ergosta-7,22-dien-3-ol, (3. β, 5. α).

²⁵⁶ FERNANDEZ, Op. cit., p. 30-76.

En el trabajo de grado No 44. TORO, Natalia y SUÁREZ, Liseth²⁵⁷, llevaron a cabo la caracterización física y química del aceite de las semillas de *Vitis labrusca* L. (uva Isabella), siguiendo las especificaciones de las normas ICONTEC para grasas y aceites. En el documento se menciona que antes de realizar el procedimiento, las semillas oleosas fueron sometidas a un tratamiento previo de lavado y secado donde este último se llevó a cabo a una temperatura de 40 °C durante 2 días, finalmente la muestra se molió en presencia de nitrógeno líquido. Para extraer el aceite, se utilizó el método Soxhlet empleando n-hexano como disolvente, con una relación M:S 1:10 durante 3 horas, obteniendo un porcentaje de extracción del 9,62%. Luego de obtenida la muestra oleosa, se procedió a obtener la materia insaponificable mediante la norma ICONTEC 235-2 (obteniendo un contenido de 1,82%), para posteriormente concentrar la fracción de fitoesteroles mediante una separación en fase sólida, empleando una columna Restek, Silica - fase normal, acondicionada previamente con 3 mL de hexano, en éste proceso se emplearon dos sistemas de elución: 1) Hexano: Acetato de etilo 9:1 y 2) Hexano: Diclorometano 6:4, así como un control de cromatografía en capa delgada con el objetivo de comprobar si la separación de fitoesteroles se iba a poder realizar. Los autores concluyeron que el sistema 1 permitió la separación eficaz de la fracción de fitoesteroles, la cual posteriormente se derivatizó de forma que pudiera realizarse el análisis cromatográfico con espectrometría de masas; los fitoesteroles determinados fueron los siguientes: β -sitosterol (72.870%), estigmasterol (10.161%), campesterol (9.691%) y campestanol (7.276%).

En el artículo No. 48, los autores SRIGLEY, Cynthia y HAILE, Ermias²⁵⁸, realizaron la validación de un método para la determinación del contenido y la composición de esteroides y/o estanoles vegetales en diversos alimentos y suplementos dietéticos que poseen fitoesteroides añadidos (incluidos el campesterol, campestanol, stigmasterol, β -sitosterol y sitostanol; que son objeto de la declaración de propiedades saludables de la FDA²⁵⁹), para esta tarea muestras ya homogenizadas se sometieron a saponificación, para ello se añadieron 0,5 mL de solución de estándar interno de epicoprostanol (5 mg/mL en cloroformo) a un recipiente de almacenamiento con capacidad de 125 mL y luego se evaporó el disolvente. Las muestras que contenían 25 mg de fitoesteroides totales (según declaración de etiqueta), se pesaron según especificaciones del artículo y se agregaron en un recipiente de capacidad de 125 mL, al cual se adicionó también 50 mL de KOH etranólico 2M con ayudas de ebullición, la muestra se selló herméticamente y se calentó durante 60 minutos a una temperatura de 80°C con agitaciones cada 15 minutos (para disolver la muestra más fácilmente). Seguido de lo anterior, se realizó una separación líquido – líquido de la materia insaponificable, para ello se agregaron 50 mL de dietil éter anhidro a la muestra ya saponificada. El recipiente que contenía la misma, se agitó y su contenido se transfirió a un embudo de separación de 500

²⁵⁷ TORO, Op. cit., p. 78-137.

²⁵⁸ SRIGLEY. Op. Cit., p. 163-166

²⁵⁹ FDA, de las siglas en ingles de "Food and Drug Administration"

mL de capacidad. El recipiente vacío se lavó con 100 ml de agua desionizada y 100 ml de éter dietílico anhidro, y los lavados se vertieron al embudo de separación mencionado; se realizó la extracción líquido-líquido y la fase orgánica, se lavó con agua desionizada cuatro veces y se transfirió a un matraz de fondo redondo de 250 mL con el fin de evaporar el disolvente. La materia insaponificable se solubilizó luego en 2,5 mL de cloroformo y se almacenó a 20 ° C hasta su uso. Las muestras analizadas por GC, mostraron un contenido total de fitosterol entre 0,2 a 55,2 g / 100 g. El contenido medio total de fitosterol tuvo un valor de 105% del 14% establecido en las declaraciones de la etiqueta. Este artículo es el primero en evaluar el contenido y la composición de los fitoesteroles en productos con fitoesteroles añadidos y disponibles en los Estados Unidos, así como su uso de la declaración de salud de la FDA para fitoesteroles y el riesgo reducido de cardiopatía coronaria CHD.

En el artículo No. 49, MENÉNDEZ, María; KNOL, Diny y JANSSEN, Hans²⁶⁰, desarrollaron y validaron una metodología GC-MS para la cuantificación de fitoesteroles (PS) y productos de oxidación de fitosterol (POPs) en productos alimenticios cocidos y horneados con margarinas que poseen esteroides vegetales añadidos y margarina control (sin adición de biocompuestos). Los métodos optimizados dieron como resultado una buena sensibilidad y permitieron el análisis de PS y POPs en una amplia selección de alimentos con un amplio rango de concentraciones. Las curvas de calibración para PS y POPs mostraron coeficientes de correlación (R^2) mejores que 0.99. Para la determinación de fitoesteroles, los autores realizan una extracción de grasa a partir de la muestra, seguida de un análisis de analitos objetivo en la misma, por lo tanto, una vez que se obtiene el extracto graso, se llevó a cabo una saponificación de la siguiente forma: se agregaron 0,5 mL de una solución de estándar interno 5α -colestano ($1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ de n-hexano) en un tubo de reacción, para margarinas con esteroides modificados. Luego, el solvente de la solución estándar se evaporó bajo una corriente de nitrógeno. Posteriormente, se pesaron 0,05 g de la grasa extraída en el tubo de reacción y se agregaron 7 mL de KOH 2 M en solución de etanol (95%). El tubo de reacción se cerró y se agitó en vórtex durante 30 s. Luego, la muestra se saponificó durante 90 minutos a 90 ° C. Después, se agregaron 5 mL de agua desmineralizada y 5 mL de heptano. La fase superior orgánica se transfirió a un tubo de ensayo de 25 mL. La extracción se repitió dos veces con 5 mL de heptano. Los extractos combinados se evaporaron bajo una corriente de nitrógeno a 50 ° C. El tubo de ensayo se enjuagó con 1 ml de heptano y el disolvente se evaporó nuevamente bajo una corriente de nitrógeno a 50 ° C. Los autores reportan que los límites de detección de los fitoesteroles, fueron inferiores a $0.24 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ en los alimentos estudiados.

²⁶⁰ MENÉNDEZ. Op. Cit., p. 1-8

ROBAYO, Angie²⁶¹, en el artículo No. 50, realizó la evaluación de los atributos morfológicos, valor nutricional y perfil metabólico del aceite presente en el mesocarpio de veintiún cultivares de aguacate provenientes de distintas regiones de Colombia, a su vez, se realizó la extracción de aceite del aguacate variedad Hass, sometiendo el mesocarpio del fruto a procesos de prensado, centrifugación y filtración, para el harina resultante del prensado en el proceso anterior, se utilizó extracción soxhlet con bencina de petróleo como disolvente. En el aceite resultante se determinó el perfil de ácidos grasos y se cuantificaron compuestos como vitamina E y esteroides, obteniendo de este último los siguientes porcentajes: 13 % Brassicasterol, 26 % Campesterol, 7 % Estigmasterol y 53 % β - Sitosterol. Para la cuantificación de esteroides, se realizó una saponificación utilizando 1 g de extracto graso, agregando 20 mL de una solución etanólica de KOH 2 N durante 90 minutos a reflujo. Luego se agregaron 20 mL de agua destilada y se llevó a cabo una extracción líquido- líquido para la separación de la materia insaponificable. En esta última, la muestra saponificada se transfirió a un embudo de decantación y se realizaron tres lavados de la fase etanólica- acuosa, con 20 mL de éter de petróleo cada uno. Posteriormente, las fracciones etéreas se recogieron y se lavaron con un total de 60 mL de etanol al 50 %. Después de eliminar el disolvente, la fracción insaponificable se secó hasta obtener un peso constante y se redisolvió en 1 mL de cloroformo. Este estudio determinó que el contenido promedio de esteroides es de 3726,7 mg/ kg aceite, lo que concuerda con lo reportado en la literatura (3396,4 ppm), el valor encontrado por los autores, también es mayor a la cantidad de fitoesteroides totales presentes en el aceite de oliva 2282,7 ppm.

En el artículo No. 51 los autores BARRERA, Rosa y ARRUBLA, Juan²⁶², se desarrolló y estandarizó un método de extracción de aceite de semillas de *Persea americana* Miller variedad Lorena, el procedimiento permitió cuantificar la cantidad de fitoesteroides como el estigmasterol y el 5 α - colestano e identificar otros como el ergosterol. En el artículo se menciona que para la determinación de fitoesteroides, se llevó a cabo una saponificación utilizando 10-100 mg de muestra de aceite aproximadamente, y 10 mL de una solución etanólica de KOH 2M, las cantidades mencionadas se introdujeron en un frasco que se cerró herméticamente y se colocó en un horno microondas doméstico a una potencia de 50 % durante dos periodos de 35 segundos, pasados 10 minutos, la muestra se neutralizó utilizando ácido clorhídrico 1 M. Luego de esto, se realizó una extracción líquido – líquido utilizando 10 mL de n-hexano, seguida de dos extracciones adicionales con el mismo solvente, pero utilizando 5 mL; se recogió la fase orgánica de cada extracción para posteriormente concentrar la materia insaponificable. Los autores mencionan que para separar la fracción de fitoesteroides, se realizó una extracción en fase sólida a

²⁶¹ ROBAYO, Angie. Caracterización fisicoquímica de diferentes variedades de aguacate, *Persea americana* Mill.(Lauraceae) e implementación de un método de extracción del aceite de aguacate como alternativa de industrialización [en línea]. Tesis para optar al título de Magister en Ciencias - Química. Universidad Nacional de Colombia, 2016. p. 57-95. [Consultado: 07 febrero 2019]. Disponible en: <http://bdigital.unal.edu.co/56953/13/angietatianarobayomedina.2016.pdf>

²⁶² BARRERA. Op. Cit., p. 35-41

partir de la materia obtenida anteriormente, en éste proceso, se utilizó un Sep-Pak de Si-OH de 200mg/3mL y eluyentes: 10 mL de una mezcla hexano:acetato de etilo (90:10) para la fracción no polar que corresponde a fitoesteroles esterificados y 10 mL de una mezcla etanol:éter etílico:hexano (50:25:25) para la fracción polar que corresponde a fitoesteroles libres, las fracciones se recolectaron y se concentraron con la ayuda de un rotaevaporador. En el documento se concluye que para las semillas utilizadas, mediante cromatografía líquida se determinó cualitativamente el ergosterol como el fitosterol mayoritario, mientras que por GC-FID se cuantificó el 5 α -colestano con un valor de 49.77 mg por Kg de aceite, seguido de estigmasterol con 19.17 mg por Kg de aceite.

Finalmente, en el artículo No, 52, WANG, Mengmeng *et al*²⁶³, analizan los fitoesteroles libres y esterificados presentes en muestras de nueces y semillas de China utilizando extracción en fase sólida y técnica de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas, de modo que pueda identificarse la conexión entre estas especies vegetales y sus beneficios sobre la salud. Para la determinación de fitoesteroles, se utilizó un equipo soxhlet que permitió extraer la fase lipídica de 2-5 g de muestra, utilizando éter de petróleo durante un periodo de 6 h. Luego de esto, se utilizó 20 mg de aceite y se saponificó con KOH 1M/etanol durante 18 horas a 25°C, después, se adicionaron 5 mL de diclorometano y 5mL de agua, de modo que se llevara a cabo una separación de la fracción de fitoesteroles totales mediante extracción líquido – líquido, el agua se eliminó y la fase orgánica se lavó tres veces con agua hasta que la solución se volvió transparente, finalmente la fase orgánica se evaporó con nitrógeno. Se llevó a cabo una extracción en fase sólida para la extracción de los fitoesteroles libres, para ello, se utilizó un cartucho SPE (Strata NH2, 55 μ m, 70 Å, 1 g/6 ml), el cual fue activado por 2 \times 5 mL de n-hexano. En seguida, se cargaron 5 ml de n-hexano que disolvían 50 mg de la fracción lipídica con 50 μ g de estándar interno (5 α -colestano). Posteriormente, se utilizaron como eluyentes: n-hexano / dietil éter (98: 2, v/v) y n-hexano / acetato de etilo (96: 4, v/v) para la separación de los fitoesteroles esterificados. Luego, el cartucho se lavó con n-hexano/acetato de etilo (5:95, v / v) para separar los esteroides libres. Los disolventes que contenían éstos últimos, se evaporaron con nitrógeno para el análisis GC-MS. Los autores reportan que la cantidad de fitoesteroles para las especies analizadas, varió entre 15,9 mg/ 100 g de peso seco de muestra a 255,2 mg/100 g de peso seco de muestra, y que en total se presentó un porcentaje de 54,1 a 77,2% de fitoesteroles libres, mientras que el entre el 76,1 y 96,4% del total de fitoesteroles pertenecían a 4-desmetil esteroides.

²⁶³ WANG, Mengmeng, *et al.* Quantitative determination of free and esterified phytosterol profile in nuts and seeds commonly consumed in China by SPE/GC-MS [en línea]. *En*: LWT - Food Science and Technology. Febrero, 2019, vol. 100, p. 355-356. [Consultado: 15 febrero 2019]. ISSN: 0023-6438. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.10.077>

Cuadro 12. Condiciones de operación para la determinación y cuantificación de fitoesteroles, utilizando como detector ionización de llama (FID).

#	Condiciones cromatográficas		
	Parte	Especificación	Condición
41	Cromatógrafo de gases	SHIMADZU	GC 14B
	Fase móvil	Gas transportador	Hidrogeno
		Flujo total	No Reporta
	Inyector	Temperatura	No Reporta
		Volumen	0,5 µL
		Modo	No Reporta
	Programacion del horno	Temperatura 1	60 °C
		Tiempo de calentamiento 1	1 min
		Rata	10 °C/min
		Temperatura 2	300 °C
		Tiempo de calentamiento 2	10 min
	Columna CP-Sil 5CB	Longitud	10 m
		Diámetro interno	0,32 mm
Espesor de película		0,20 µm	
Detector FID	Temperatura	320 °C	
42	Cromatógrafo de gases	No Reporta	No Reporta
	Fase móvil	Gas transportador	Helio
		Flujo total	30 mL/min
	Inyector	Temperatura	260 °C
		Volumen	No Reporta
		Modo	
	Programación del horno	Temperatura 1	60 °C
		Tiempo de calentamiento 1	1 min
		Rata	40 °C/min
		Temperatura 2	310 °C
		Tiempo de calentamiento 2	27 min
	Columna DB-5MS	Longitud	30 m
		Diámetro interno	0.25 mm
Espesor de película		0.50 µm	
Detector FID	Temperatura	310 °C	

Cuadro 12. (Continuación).

#	Condiciones cromatográficas		
	Parte	Especificación	Condición
43	Cromatógrafo de gases	Hewlett Packard	6890
	Fase móvil	Gas transportador	Helio
		Flujo total	2 mL/min
	Inyector	Temperatura	No Reporta
		Volumen	1 µL
		Modo	Split
	Programación del horno	Temperatura 1	220 °C
		Rata	8 °C/min
		Temperatura 2	270 °C
		Tiempo	30 min
	Columna HP-5	Longitud	30 m
		Diámetro interno	0,32 mm
		Espesor de película	0,25 µm
Detector FID	Temperatura	300 °C	
45	Cromatógrafo de gases	SHIMADZU	GC-2014
	Fase móvil	Gas transportador	Helio
		Flujo total	45 mL/min
	Inyector	Temperatura	350 °C
		Volumen	1 µL
		Modo	Split
	Programación del horno	Temperatura 1	250 °C
		Tiempo de calentamiento 1	2 min
		Rata	40 °C/min
		Temperatura 2	280 °C
	Columna MXT5	Tiempo de calentamiento 2	17 min
		Longitud	30 m
		Diámetro interno	0,25 mm
Detector FID	Espesor de película	0,5 µm	
	Temperatura	310 °C	

Cuadro 12. (Continuación).

#	Condiciones cromatográficas		
	Parte	Especificación	Condición
46	Cromatógrafo de gases	SHIMADZU PLUS	GC-2010
	Fase móvil	Gas transportador	Helio
		Flujo total	No Reporta
	Inyector	Temperatura	No Reporta
		Volumen	2 µL
		Modo	No Reporta
	Programación del horno	Temperatura 1	60 °C
		Tiempo de calentamiento 1	1 min
		Rata 1	10 ° C/min
		Temperatura 2	300 °C
		Tiempo de calentamiento 2	50 min
		Rata 2	10 ° C/min
	Columna SAC-5	Longitud	30 m
		Diámetro interno	0,25 mm
Espesor de película		0,25 µm	
Detector FID	Temperatura	300 °C	
47	Cromatógrafo de gases	Agilent Technologies	7890A
	Fase móvil	Gas transportador	Hidrógeno
		Flujo total	10 mL/min
	Inyector	Temperatura	No Reporta
		Volumen	1 µL
		Modo	On column
	Programación del horno	Temperatura 1	80 °C
		Tiempo de calentamiento 1	1 min
		Rata 1	20 °C/min
		Temperatura 2	220 °C
		Rata 2	10 °C/min
Temperatura 3		350 °C	
Columna HP-5	Tiempo de calentamiento 3	15 min	
	Longitud	15 m	
	Diámetro interno	0,32 mm	

Cuadro 12. (Continuación).

#	Condiciones cromatográficas		
	Parte	Especificación	Condición
47	Columna HP-5	Espesor de película	0,25 μm
	Detector FID	Temperatura	350 $^{\circ}\text{C}$
51	Cromatógrafo de gases	SHIMADZU	GC-2014
	Fase móvil	Gas transportador	Helio
		Flujo total	45 mL/min
	Inyector	Temperatura	300 $^{\circ}\text{C}$
		Volumen	1 μL
		Modo	Split
	Programación del horno	Temperatura 1	250 $^{\circ}\text{C}$
		Tiempo de calentamiento 1	2 min
		Rata 1	40 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$
		Temperatura 2	280 $^{\circ}\text{C}$
		Tiempo de calentamiento 2	10 min
		Temperatura 3	300 $^{\circ}\text{C}$
		Rata 2	10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$
	Columna MXT5	Tiempo de calentamiento 3	5 min
		Longitud	30 m
Diámetro interno		0,5 mm	
	Espesor de película	0,5 μm	
Detector FID	Temperatura	360 $^{\circ}\text{C}$	

Fuente: elaboración propia.

DA COSTA, Paolo *et al*²⁶⁴, en el artículo No. 41, evaluaron el contenido de fitoesteroles y tocoferoles de pulpas y frutos secos de Brasil, con el propósito de obtener información confiable a cerca de la composición fitoquímica de algunos alimentos nativos de esta región. La extracción del aceite se realizó mediante el método descrito por Sadler, Davis y Dezman, para evitar el uso de disolventes organoclorados en el tratamiento de la muestra. Los fitoesteroles se determinaron mediante la saponificación de 50 a 100 mg del aceite extraído con una solución etanólica de KOH (1 mL) a 70 $^{\circ}\text{C}$ durante 50 minutos. Posteriormente, se añadió a la muestra el estándar interno (100 μL de β -colestanol 3 mg L^{-1} en MTBE) antes de la saponificación. Para la fracción insaponificable, se utilizó una extracción líquido-líquido en 1 ml de agua destilada y 5 ml de n-heptano. La fase orgánica se transfirió a un tubo de ensayo que contenía Na_2SO_4 , y la extracción se repitió dos

²⁶⁴ DA COSTA. Op. Cit., p. 1603-1606

veces con 5 y 4 ml de n-heptano. El análisis de fitoesteroles se realizó por GC-FID, donde las pulpas de *Couma rigida* M. (26-236 mg 100 g⁻¹), *Maximiliana maripa* D. (119-285 mg 100 g⁻¹) y *Genipa Americana* L. (216 mg 100 g⁻¹), mostraron los contenidos más altos de fitoesterol total. Por otro lado, las pulpas de *Mauritia flexuosa* L. (346.72 µg g⁻¹) y *Endopleura uchi* C. (200.92 µg g⁻¹) mostraron la mayor actividad de la vitamina E. De acuerdo con los resultados reportados por los autores, estas frutas y nueces tienen un gran potencial para ser cultivadas y comercializadas como fuentes dietéticas alternativas para estos compuestos bioactivos.

Tal como se mencionó anteriormente, en el artículo No. 42 los autores AZADMARD, Sodeif, *et al*²⁶⁵, evaluaron el efecto del tratamiento previo con microondas sobre la estabilidad oxidativa y el contenido nutracéutico, del aceite de colza obtenido por prensado y extracción con solventes. Respecto al análisis de los fitoesteroles, las muestras de aceite se saponificaron de acuerdo con el método descrito por Azadmard Damirchi *et al*, donde la muestra de aceite (aproximadamente 30 mg) se mezcló con 3 mL de KOH 2 M en etanol al 95%, esto se llevó a cabo en un tubo de vidrio y se agitó en un baño de agua a 90°C durante 15 min. Después de enfriar los tubos, se agregaron 2 mL de agua y 1,5 mL de hexano y se mezclaron vigorosamente. Posteriormente, la mezcla se centrifugó a 3000 rpm durante 5 minutos y la capa de hexano que contenía la fracción insaponificable se separó para un análisis adicional. Los fitoesteroles se determinaron por GC-FID, donde se detectaron seis de éstos compuestos (colesterol, brassicasterol, estigmasterol, campesterol, sitosterol y Δ⁵-avenasterol); en las muestras de aceite de colza analizadas predominó el sitosterol (50-56%), seguido de campesterol (32-36%) y brassicasterol (8-9%). El aceite extraído de colza por disolvente tuvo el mayor contenido de fitosterol (8120 µg / g) entre todas las muestras analizadas, mientras que el contenido de fitosterol del aceite extraído por presión sin tratar tuvo la cantidad más baja (6601 µg / g). Estos resultados muestran que la extracción con solventes es más eficiente en la extracción de fitoesteroles en aceite. Sin embargo, el contenido total en fitosterol del aceite extraído por presión de la muestra no tratada y el aceite obtenido de muestras tratadas durante 2 y 4 minutos con microondas fue de 6601, 7407 y 7813 ppm, respectivamente. Estos resultados muestran que la utilización previa de técnicas como microondas sobre la muestra, es una buena herramienta para enriquecer el contenido de fitoesterol del aceite extraído.

En el artículo No. 43, HERNÁNDEZ, R, *et al*²⁶⁶, llevaron a cabo la cuantificación de fitoesteroles a partir de los residuos industriales de la molienda húmeda de maíz, donde todos los residuos (germen, gluten, cascarilla seca y cascarilla humedad)

²⁶⁵ AZADMARD, Op, cit., p. 1111-1113.

²⁶⁶ HERNÁNDEZ, R, *et al*. Cuantificación de fitoesteroles en residuos industriales derivados de la molienda húmeda de maíz [en línea]. *En: CyTA – Journal of Food*. Agosto, 2011, vol. 9, no. 2, p. 102-107. [Consultado: 03 febrero 2019]. ISSN: 1947-6337. DOI: <https://doi.org/10.1080/19476337.2010.482747>

pasaron por un proceso de molienda en un procesador domestico de alimentos y posteriormente se tamizaron a través de una malla No. 20. La extracción se realizó con una relación M:S equivalente a 1:20, usando cloroformo como solvente, durante 1 hora. Las fracciones orgánicas se recuperaron mediante un papel filtro Whatman No 20 y el resto se evaporó por medio de un rotavaporador a presión reducida con una temperatura de 35°C. La saponificación se llevó a cabo con 50 mL de KOH metanólico 2 N, manteniendo una temperatura de 55- 60°C durante una hora. Posteriormente, la fracción resultante se transfirió a un embudo de decantación mediante la adición de 50 mL de agua destilada y 40 mL de éter etílico, la mezcla se agitó y se dejó en reposar hasta la separación de las fases. El extracto concentrado se evaporó en corriente de nitrógeno hasta sequedad para obtener de materia insaponificable con la que se llevó a cabo el análisis cromatográfico encontrando que, la fracción lipídica tenía un contenido total de fitoesteroles de 42.1 ± 7.4 mg/g, gluten 2.8 ± 1.3 mg/g donde el componente principal fue β -sitosterol con 82.2 y 67.9%. Los residuos cascarilla húmeda y cascarilla seca presentaron el contenido más bajo de fitoesterol (0.4 ± 0.1 mg/g; 0.3 ± 0.04 mg/g), siendo el sitosterol el compuesto principal (42.2 y 48.6%) en ambos residuos.

ARIAS, Andrés y GIL, Diana²⁶⁷ (artículo No 45). Estandarizaron la técnica de cromatografía de gases con detector de ionización de llama (GC-FID) para la identificación y cuantificación de fitoesteroles en las semillas de *Luffa Cylindrica*. Para ello, calcularon parámetros estadísticos, como exactitud, precisión, sensibilidad, reproducibilidad, linealidad, repetibilidad, límite de detección, límite de cuantificación y sesgo, alcanzando valores tolerables para estas medidas. La extracción del aceite, se realizó por el método Soxhlet empleando n-hexano como disolvente, con una relación soluto: solvente 1:5 durante 2 horas, obteniendo un porcentaje de extracción del 8,45%. La muestra oleosa obtenida fue sometida al proceso de saponificación para la extracción de la materia insaponificable según la norma ICONTEC NTC 235-2, posteriormente se utilizó la técnica de extracción de fase sólida (EFS) con el fin de obtener la fracción de fitoesteroles a partir de la materia insaponificable de la sustancia oleosa, para este proceso se utilizaron cartuchos de silica gel, con capacidad de 3 mL/ 500 mg, relación silica: muestra de 1:20 y sistemas de elución de Hexano: Acetato de etilo y hexano: diclorometano que permitieron la evaluación de las fracciones obtenidas por cromatografía de capa delgada; el primer sistema permitió la separación de los compuestos esteroidales. En el proceso descrito se obtuvo un contenido de materia insaponificable de 1,8465% y mediante el análisis cromatográfico se determinó al β - sitosterol como fitoesterol mayoritario con 2551.1 mg/ kg de aceite, seguido del estigmasterol con 211,19 mg/ kg de aceite.

En el artículo No. 46, TALAVERANO, Alagón²⁶⁸, realizó un estudio para la determinación de compuestos fenólicos, carotenoides, fitoesteroles, tocoferoles,

²⁶⁷ ARIAS, Op, cit., p. 38-80.

²⁶⁸ TALAVERANO, Op. cit., p. 61-107.

ácidos grasos y capacidad antioxidante del aceite extraído a partir de las semillas de Sacha Inchi. La extracción se realizó mediante el método Soxhlet utilizando éter de petróleo como disolvente, con una relación M:S equivalente a 1:10 durante 6 horas, obteniendo un porcentaje de extracción entre 37.57% - 33.24%. Los resultados obtenidos mostraron que el contenido de compuestos fenólicos estaba entre 58.98 – 69.66 mg de ácido gálico/ 100 g aceite, el contenido de carotenoides entre 0.15 – 0.33 mg β -caroteno/ 100 g aceite. Por otro lado, el contenido de tocoferoles (α , β , γ y δ -tocoferol), tuvo un promedio de 212.32 mg tocoferol/ 100 g aceite, que osciló entre 7.69 – 7.92 mg α -tocoferol/100 g aceite, 3.09 – 3.53 mg β -tocoferol/100 g aceite, 70.29 – 160.13 mg γ -tocoferol/100 g aceite y 40.12 – 94.45 mg δ -tocoferol/100 g aceite, mientras que el análisis de ácidos grasos mostró que ácido α - linoleico y ácido linoleico fueron los principales ácidos presentes en las muestras de aceite estudiadas, con un promedio de 41.26 y 37.55% respectivamente. También hubo ácidos como: palmítico, esteárico, oleico y vaccénico. En relación con la determinación de fitoesteroles, primero se lleva a cabo la saponificación de la muestra con 100 mg de aceite, agregando 100 μ L de estándar interno (β -colestanol) y 1 mL de solución etanólica de KOH 12%, que se colocó en un baño de maría a 60 °C por 90 minutos manteniendo una agitación lenta. Posteriormente, se agregaron 1 mL de agua destilada y 5 mL de n-heptano a la muestra resultante de la saponificación y se transfirieron a un embudo de decantación para extraer la fracción insaponificable que se evaluó mediante cromatografía de gases, encontrando 19.75 – 24.60 mg campesterol/ 100 g aceite, 61.45 – 77.55 mg estigmasterol/ 100 g aceite y 123.99 – 154.59 mg β -sitosterol/ 100 g aceite.

AGUIRRE, Marta²⁶⁹, en el artículo No. 47, realizó la evaluación de fitoesteroles en aceites de semilla de girasol modificadas genéticamente. Los autores reportan que el proceso inicialmente consta de la extracción de aceite de semillas de girasol por prensado, luego de esto, a la harina resultante se le realiza nuevamente la extracción de aceite, pero por la técnica de disolvente. Las sustancias oleosas obtenidas por las dos metodologías, se someten a pruebas de refinación química y física con el objetivo de determinar las mejores condiciones en este proceso. Para la extracción de aceite por Soxhlet, se empleó n-hexano como disolvente, una relación M: S equivalente a 1:10 y un periodo de tiempo de 4 horas; el porcentaje de extracción obtenido es de 17,44%, luego de esto, se realizó la determinación del contenido de materia insaponificable según las especificaciones la Norma (UNE 55004), modificando la etapa final de extracción. Para esto, se añadió 1 mL de α -colestanol en éter isopropílico, luego se eliminó el solvente con N₂ y finalmente se agregaron 2 g de aceite. Posteriormente, se añadieron 50 mL de solución etanólica de KOH 2 N durante 2 horas. Después de este tiempo, la muestra se lleva a un embudo de decantación donde se realizaron dos extracciones con 25 mL de cloroformo y las fracciones etéreas se lavaron dos veces con KOH 0.5 N para eliminar los jabones. Por último, se utilizó un rotavaporador para eliminar

²⁶⁹ AGUIRRE. Op. Cit., p. 25-84

completamente el solvente de la fase orgánica junto con una corriente de N₂ para secar hasta alcanzar un peso constante. Esta fracción insaponificable se disolvió con cloroformo: metanol (2:1), lo que favoreció la extracción de los esteroides glucósidos de alta polaridad. El contenido de fitoesteroides encontrado fue de 2412 a 8507 mg/ kg con un valor promedio de 4675 mg/kg que está dentro del rango de 2400 a 5000 mg/kg establecido por las normas Codex Alimentarius para los aceites de girasol.

3. RESULTADOS Y ANÁLISIS

3.1 SELECCIÓN DE PARÁMETROS

Como se observó en la agrupación de los artículos del capítulo anterior, se tomaron en cuenta las variables más relevantes para cada método de extracción, de modo que, la selección de los parámetros para la realización de los experimentos, se basó en la concurrencia de las condiciones operativas de los documentos investigados, esto también, debido a la falta de información acerca de la semilla de aguacate *Persea americana Mill*, variedad Hass.

A causa de la similitud encontrada para las dos primeras técnicas de extracción (microondas y ultrasonido), respecto al valor reiterado de la relación muestra: solvente (1:10) en el rastreo bibliográfico realizado, se unificó este parámetro para las tres metodologías seleccionadas en el actual estudio, que corresponden a las dos mencionadas y soxhlet. Esta variable (relación muestra: solvente) debe establecerse para evitar limitaciones a valores bajos de esta proporción y la generación de extractos demasiado diluidos a valores altos; también influye en la temperatura y el rendimiento de extracción; algunos autores, mencionan que éste último aumenta en las proporciones más altas de solvente: sólido, que se encuentran entre 10 y 30. La proporción seleccionada, permite que al momento de realizar la extracción, no se evapore todo el solvente (bajo la acción de la temperatura y presión) y que por lo tanto, se garantice un contacto entre el disolvente y la muestra, facilitando el proceso extractivo. Adicionalmente la relación muestra solvente 1:10 permite que haya volúmenes de disolvente suficiente con tiene poca probabilidad de saturarse, situación que favorece la transferencia de masa en procesos extractivos²⁷⁰.

Adicionalmente, es necesario aclarar que la cantidad de masa de semilla de aguacate, se establece teniendo en cuenta las réplicas de los métodos seleccionados, la capacidad de cada equipo y la materia prima disponible en caso de eventos imprevistos durante el desarrollo del proyecto.

Otro parámetro que se unificó para las tres técnicas extractivas, corresponde a la implementación de Etanol (100%) como disolvente, esto se realizó con el objetivo de lograr procedimientos de extracción eficaces y ecológicos, que sean seguros para los usuarios y más respetuosos con el medio ambiente, en lugar de utilizar solventes derivados del petróleo como el n-hexano. En experimentos realizados con MAE, el etanol es el solvente más utilizado para extraer compuestos bioactivos,

²⁷⁰ ACOSTA, Jhoany, et al. Empleo del ultrasonido para la extracción de fracción apolar en hojas de *Mangifera indica* L. (árbol del mango) [en línea]. En: Revista Cubana de Plantas Medicinales. Julio – Septiembre, 2016, vol 21, no. 3, p. 270. ISSN: 1028-4796. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962016000300002

pues es un buen absorbente de microondas. La selección del solvente, es basada en las referencias explicadas de la sección 2.1.4.

3.1.1 Selección de parámetros para la hidrodestilación asistida por microondas. Para desarrollar un proceso de extracción eficiente, se realizó una revisión bibliográfica que se agrupó en los cuadros (3), (4), y (5), con la intención de documentar las investigaciones que se han llevado a cabo hasta el momento para explorar esta técnica, en las cuales se destaca la eficiencia de la extracción asistida por microondas y su importancia como método alternativo a los procedimientos convencionales para la extracción de fitoquímicos²⁷¹. Por lo tanto, de acuerdo con los resultados de la literatura revisada, se establecen las condiciones operativas para la extracción de aceite que se utilizarán para este estudio. Los valores de los parámetros seleccionados se reportan en la tabla 8:

Tabla 8. Selección de parámetros para la hidrodestilación asistida con microondas.

Parámetros para la hidrodestilación asistida con microondas	
Masa semillas (g)	95
Solvente	Etanol
Relación Soluta/Solvente (m/v)	1:10
Potencia (W)	600-700
Tiempo (min)	60

Fuente: elaboración propia

Como se muestra en la tabla anterior, se tomaron en cuenta variables como el tiempo, la relación soluto / solvente y la potencia para la selección de las condiciones de operación, ya que son las más relevantes para la extracción por microondas.

Los estudios que se han realizado para la extracción asistida por microondas, han encontrado que la potencia debe seleccionarse correctamente para evitar el exceso de temperatura, lo que podría provocar la degradación de los solutos y la sobrepresión dentro del recipiente, además, este parámetro es importante para maximizar los rendimientos y la selectividad de los compuestos deseados sin afectar su estabilidad y actividad²⁷². De acuerdo con esto, los valores de potencia se establecieron en el rango 600 a 700 W según investigaciones anteriores de KUSUMA y MAHFUD²⁷³, DORANTES, GUZMÁN y I²⁷⁴, DORANTES, *et al.*²⁷⁵,

²⁷¹ DORANTES. Microwave-Assisted Extraction of Phytochemicals and Other Bioactive Compounds. Op. cit, p. 1-3.

²⁷² RODRÍGUEZ. Water Extraction of Bioactive Compounds: Chapter 6 Microwave-Assisted Water Extraction. Op. cit., p. 184

²⁷³ KUSUMA y MAHFUD. Kinetic studies on extraction of essential oil from sandalwood (*Santalum album*) by microwave air-hydrodistillation method, Op. cit. p. 1163-1172.

²⁷⁴ DORANTES, GUZMÁN y I. Op. cit., p. 298-302

²⁷⁵ DORANTES. Microwave processing of avocado: Volatile flavor profiling and olfactometry. Op. cit., p. 501-506

VIROT, *et al.*²⁷⁶, RAMOS, *et al.*²⁷⁷, KUSUMA y MAHFUD²⁷⁸, ĐURĐEVIĆ, *et al.*²⁷⁹ y BUSTAMANTE, *et al.*²⁸⁰. Donde los resultados obtenidos en cada estudio reportaron ahorros de tiempo y energía, además de mostrar rendimientos considerables.

En cuanto a la selección del tiempo de extracción, se ha propuesto 60 minutos, establecido a partir de la información proporcionada por KUSUMA y MAHFUD²⁸¹ JIMÉNEZ, *et al.*²⁸², JEYARATNAM, *et al.*²⁸³, GONZÁLEZ, *et al.*²⁸⁴, KUSUMA y MAHFUD²⁸⁵, en los que se utilizan tiempos más largos para la extracción de aceites esenciales. Sin embargo, los tiempos prolongados implican riesgos asociados con la degradación térmica, por lo que varias investigaciones proponen la operación en ciclos de extracción. Por otro lado, la potencia de microondas y el tiempo de irradiación están estrechamente relacionados, donde las condiciones óptimas dependen de la matriz y el soluto.

3.1.2 Selección de parámetros para ultrasonido. De acuerdo al listado de documentos presentado en los cuadros 6 y 7; y a los parámetros consignados en las mismas, se seleccionaron las condiciones de operación para la extracción de aceite utilizando esta técnica, de acuerdo a los procesos extractivos que involucran la semilla de aguacate perteneciente al género *Persea americana* Mill, así como otras especies vegetales características por contener sustancia oleica.

Tabla 9. Selección de parámetros para ultrasonido.

Parámetros para ultrasonido	
Masa semillas (g)	10
Solvente	Etanol
Relación Soluta/Solvente (m/v)	1:10
Frecuencia (kHz)	40
Temperatura	60
Tiempo (h)	1

Fuente: elaboración propia

Los procesos de extracción utilizando ultrasonido se encuentran afectados por diversas condiciones de operación. CAMPO, GELVEZ y AYALA²⁸⁶ afirman que, en

²⁷⁶ VIROT. Green procedure with a green solvent for fats and oils' determination Microwave-integrated Soxhlet using limonene followed by microwave Clevenger distillation. Op. cit., p. 147-152

²⁷⁷ RAMOS, *et al.* Op. cit., p. 85-92.

²⁷⁸ KUSUMA y MAHFUD. Microwave-assisted Hydrodistillation for Extraction of Essential Oil from Patchouli (*Pogostemon cablin*) Leaves. Op. cit., p. 82-92

²⁷⁹ ĐURĐEVIĆ. Op. cit., p. 21-27.

²⁸⁰ BUSTAMANTE, *et al.* Op. cit., p. 598-605.

²⁸¹ KUSUMA y MAHFUD. Kinetic studies on extraction of essential oil from sandalwood (*Santalum album*) by microwave air-hydrodistillation method, Op. cit. p. 1163-1172.

²⁸² JIMÉNEZ. Op. cit. p. 89-82.

²⁸³ JEYARATNAM. Op. cit. p. 57-66.

²⁸⁴ GONZÁLEZ. Op. cit. p. 308-318

²⁸⁵ KUSUMA y MAHFUD. Microwave-assisted Hydrodistillation for Extraction of Essential Oil from Patchouli (*Pogostemon cablin*) Leaves. Op. cit., p. 82-92

²⁸⁶ CAMPO. Op. Cit., p. 106.

esta metodología de extracción, variables como: temperatura, ciclo, composición del disolvente, pH del disolvente, relación solvente/muestra y amplitud, influyen en la eficiencia extractiva, sin embargo, de acuerdo al rastreo bibliográfico realizado, se encontró que los parámetros más evaluados corresponden a: frecuencia, relación muestra/disolvente, temperatura, tiempo y solvente. Por lo tanto, las variables anteriores, corresponden a aquellas que se tuvieron en cuenta para la selección de las condiciones de operación en la técnica con baño ultrasónico.

El solvente y la relación muestra/solvente a utilizar en el proceso, ya han sido especificados en la sección 3.1, por lo que a continuación, solo se explicará la selección del rango para las variables restantes (Temperatura, tiempo y frecuencia). Es preciso aclarar, que los valores de operación presentados en la tabla 9, se escogieron según el estudio de las condiciones más repetentes en los procesos de extracción investigados.

En los documentos realizados por los autores ARLENE, Ariestya (# 19); SEGOVIA, F.J, CORRAL-PEREZ, J.J y ALMAJANO M.P (# 20); TAN, Chin Xuan, *et al* (#23); FUENTES, María y ARANDA, Marleny D. (# 26) y SPINELLA, María, *et al* (# 28.), se ha registrado que variables como la temperatura en procesos con ultrasonido, mejora la extracción de sustancias oleosas o compuestos bioactivos, pues a mayor temperatura, la viscosidad y la densidad de disolvente disminuyen, facilitando la solubilidad del aceite en el mismo y la transferencia de masa en el proceso. La temperatura trabajada en la mayoría de los documentos, equivale a 60°C, la cual, corresponde a una de las temperaturas más altas, esta situación, coincide con la afirmación mencionada “aumento de temperatura favorece el proceso extractivo”, por lo tanto, fue seleccionado este valor para el proceso del actual proyecto.

Respecto a la frecuencia, en los artículos listados se trabajan casi equitativamente los valores de 40 kHz y 45 kHz, sin embargo, pese a que esta variable se consideró una de las más influyentes en la selección de condiciones de operación (tal como se mencionó al inicio de ésta sección) y se consignó los respectivos valores usados en las extracciones documentadas por los artículos pertenecientes a los cuadros 6 y 7, la condición seleccionada corresponde a 40 kHz, que equivale a la frecuencia con la que trabaja el equipo de baño ultrasónico de la entidad Sena Tecnoparque nodo Bogotá.

Por último, en relación al tiempo de extracción, se observa que los valores registrados en los cuadros 6 y 7 referentes a este parámetro, oscilan mayoritariamente entre los treinta minutos y la hora, por lo cual se consultó una referencia adicional que estudia esta variable en procesos de extracción con ultrasonido. De acuerdo a lo mencionado, en el capítulo “Fundamentals of Ultrasound-Assisted Extraction²⁸⁷”, se afirma que los tiempos cortos pueden significar una extracción incompleta y los tiempos largos pueden dar lugar a

²⁸⁷ LAVILLA. Op. Cit., p. 291-316

reacciones indeseables y procesos extractivos menos selectivos. Por lo cual, se seleccionó un periodo equivalente a una hora, que también corresponde a uno de los rangos más trabajados en los documentos listados.

3.1.3 Parámetros para Soxhlet. Según una revisión previa de la literatura, la selección de parámetros para este método de extracción se presenta a continuación:

Tabla 10. Selección de parámetros para el método Soxhlet.

Parámetros para el método soxhlet	
Masa semillas (g)	25
Solvente	Etanol
Relación soluto/Solvente (m/v)	1:10
Temperatura (°C)	70
Tiempo (h)	6

Fuente: elaboración propia

La relación muestra: solvente para los ensayos con soxhlet, fue seleccionado previamente en la sección 3.1, debido a la diversidad de rangos en los documentos estudiados para ésta metodología, la proporción 1:10 corresponde a la condición más utilizada para las otras dos técnicas seleccionadas (microondas y ultrasonido), y se encuentra entre los valores trabajados por los autores POLANIA, Wilson (#31) y BARRERA, Rosa; ARRUBLA, Juan (#32), para los artículos que realizan extracción de aceite a partir de semillas de aguacate del género *Persea americana* mediante extracción con disolventes. La selección del solvente se especifica en la sección 2.1.4.

La elección de la temperatura de extracción debe seleccionarse teniendo en cuenta la estabilidad y el rendimiento de extracción de los compuestos activos. Por lo tanto, la temperatura se establece en 70 °C considerando el punto de ebullición del etanol. Aunque un aumento en la temperatura de extracción puede mejorar los rendimientos debido a la mayor difusividad del solvente en el sólido y a la desorción de los solutos, los efectos indeseables incluyen la formación de subproductos, la descomposición y / o la degradación de los compuestos objetivo por lo que se procura que la temperatura permanezca constante durante todo el proceso

Por último, para la selección del tiempo de extracción en el método Soxhlet, se observa que el intervalo comúnmente utilizado según los artículos presentados en los cuadros 8 y 9, corresponde al periodo entre las 4 y 8 horas, investigaciones como las realizadas por POLANIA, Wilson (#31) para la extracción de aceite, muestran que la selección de la duración de la operación por Soxhlet, estuvo estrechamente relacionada con el análisis realizado para la selección del solvente de extracción, donde se observó que los rendimientos presentes en el aceite eran significativos cuando los tiempos de extracción estuvieron en un rango de 5 a 8 horas, por lo que, según lo mencionado y debido a la disponibilidad del préstamo

del laboratorio para el desarrollo del proyecto, el tiempo de extracción elegido fue de 6 horas.

3.2 EXTRACCIÓN DE ACEITE

3.2.1 Pretratamiento de la materia prima. Esta etapa consiste en hacer que el material de estudio se encuentre en las mejores condiciones para el proceso de extracción. Es el primer y más importante paso para aumentar efectivamente la accesibilidad de los compuestos deseados, los pretratamientos pueden físicos, químicos o biológicos o combinaciones de los tres. Idealmente, cualquier método de pretratamiento debe cumplir ciertos requisitos, tales como altos niveles de recuperación, bajos niveles de degradación de subproductos e inhibidores, bajos costos de operación y ser aplicables a un entorno industrial²⁸⁸. Al tratarse de la utilización de un residuo agroindustrial, es necesario acondicionar este material con el fin de asegurar su conservación en un estado considerable hasta la realización de los procesos extractivos; sumado a lo anterior, resulta importante preparar la muestra (mediante procesos de molienda y tamizado) debido a que la disminución del tamaño de partícula influye en la extracción de sustancias o compuestos determinados (debido al aumento del área superficial del material)²⁸⁹.

3.2.1.1 Secado. Decidir las condiciones de secado adecuadas y comprender su capacidad para minimizar la humedad de las semillas de aguacate Hass es una tarea imprescindible, ya que puede evitar daños irreversibles a la materia prima, gracias a la prevención de crecimiento y reproducción de microorganismos. Además, el proceso de secado reduce el peso, minimiza el espacio de almacenamiento requerido, facilita su transporte y permite su almacenamiento durante un período de tiempo prolongado²⁹⁰.

²⁸⁸ KRICKA, W; FITZPATRICK, J y BOND, U. Advances in Applied Microbiology [en línea]. Elsevier, Marzo, 2015. Chapter Three Challenges for the production of bioethanol from biomass using recombinant yeasts. p. 89-125. [Consultado: 25 agosto 2019]. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/bs.aambs.2015.02.003>. ISBN: 978-0-12-802249-8

²⁸⁹ ABARCA, Gema de los Ángeles, *et al.* Reducción mecánica de tamaño y tamizado de los sólidos. En: Academia [sitio web]. Nicaragua: Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua. [Consultado: 28 agosto 2019]. Disponible en: https://www.academia.edu/33615269/Reduccion_de_tama%C3%B1o_y_tamizado

²⁹⁰ AVHAD, Op. cit., p. 467-468.

Imagen 29. a) y b) Semillas después del proceso de secado.



Fuente: elaboración propia.

Como se muestra en la imagen 28, la temperatura de secado seleccionada (sección 2.2.4), permitió la evaporación del agua que residía dentro de las semillas. Además, el tratamiento físico previo al proceso de secado permitió el uso de menos energía en el proceso, ayudando a eliminar la humedad más rápido.

No obstante, debe tenerse en cuenta que una alta temperatura de secado podría quemar las paredes celulares, lo que, en consecuencia, podría conducir a la evaporación incompleta del agua que, a su vez, podría causar complejidad para la extracción de los productos químicos de valor agregado. Por otro lado, las condiciones de secado también podrían tener una influencia significativa en las propiedades físicas y químicas de las semillas de aguacate Hass, estudios realizados han demostrado que las semillas pretratadas pierden aproximadamente el doble de humedad que las semillas no tratadas²⁹¹.

Es importante aclarar, que el proceso de secado, facilitó las operaciones de molienda y tamizado que se llevaron a cabo posteriormente, permitiendo que la materia prima se procesara adecuadamente en los equipos, sin adherirse a las paredes de los mismos y generando tamaños de partícula deseados.

3.2.1.2 Molienda. Para reducir el tamaño de partícula de la muestra de semillas previamente secada, se utilizó un molino de martillos, con una malla de abertura de 1,7 mm, tal como se mencionó en la sección 2.2.5. OKLAHOMA STATE UNIVERSITY²⁹², menciona que para productos agroindustriales que incluyen semillas oleaginosas, esta operación es de gran importancia, pues aumenta la relación área superficial a volumen, lo que incrementa la tasa de transferencia de masa en procesos posteriores de extracción con solventes. Por otro lado, autores como PEREZ, Liliana²⁹³, mencionan que el tamaño de partícula obtenido depende

²⁹¹ Ibid., p. 469- 472

²⁹² OKLAHOMA STATE UNIVERSITY. Op. Cit.; p.31

²⁹³ PEREZ, Liliana. Evaluación de las fracciones granulométricas de la harina de sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) para la elaboración de una pasta alimenticia [en línea]. Trabajo final para optar por título de especialista

de la velocidad con la que se introduce el material al equipo, el tamaño de la malla y la velocidad del motor.

Para el experimento, fue introducida al molino, una cantidad inicial de 1759 g y se recogió una cantidad de semilla molida de 1618 g, por lo que el rendimiento del proceso equivale a 91.98% con pérdidas de 141 g que representan el 8.02%. Este último porcentaje, pueden deberse al movimiento del material en el interior del molino, lo que genera pérdidas de humedad al aire y por lo tanto una reducción en el peso final, adicionalmente, el tornillo que ajusta la parte superior (tolva) e inferior del equipo, se afloja con la vibración del proceso, por lo que, por esta abertura, se dispersaba el material molido al ambiente.

Imagen 30. Semilla molida.



Fuente: elaboración propia.

La semilla molida luego de esta operación, presentaba formas regulares de tamaño aparente al de la malla utilizada.

3.2.1.3 Tamizado. La muestra obtenida de la molienda se introdujo en una unidad de tamizado según lo mencionado en la sección 2.2.6 Para el experimento se obtuvo que la mayor cantidad de material, poseía un tamaño de partícula de 0.5943 mm (24.44%) retenido en la malla No. 30, seguido del 20.88% de semilla molida, retenida en la malla No. 20; la menor cantidad de material, se retuvo en la malla No.100, que correspondía a la malla más fina utilizada, con un porcentaje de 0.32% (omitiendo los fondos). La muestra original se dispersó en todos los tamices seleccionados.

La cantidad de semillas tamizadas, equivale a 1571 g (considerando que la cantidad suministrada al equipo equivale a los 1618 g de material recogido, después de la molienda), por lo que el rendimiento del proceso es de 97,1%, con pérdidas de 47

en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Universidad Nacional de Colombia, 2010. p. 33-34. [Consultado: 30 mayo 2019]. Disponible en: <http://bdigital.unal.edu.co/2781/1/107403.2010.pdf>

g que representan el 2.9%. Este valor se estima que se debe al proceso de limpieza de cada tamiz.

Respecto a la malla utilizada en la molienda (1,7 mm), en el tamizado se observa que la muestra resultante resultó más fina de lo que se esperaba, pues al medir la cantidad de semilla retenida en el tamiz No.12, que posee la misma abertura reportada para el molino (y que adicionalmente corresponde a la malla más gruesa utilizada en el proceso), es de 10.31%, Por lo que el 89,43% se almacenó en las mallas No. 14, 16, 20, 30, 40, 50, 70, 80 y 100, sin involucrar los fondos; esto puede deberse, no solo a la velocidad con la que se introduce el material al equipo y la velocidad del motor, tal como se mencionó en la sección 3.2.1.2.

Imagen 31. Distribución de la semilla por No. de Tamiz. a) No. 12, b) No. 14, c) No. 16, d) No. 20, e) No. 30, f) No. 40, g) No. 50, h) No. 70, i) No. 80 y j) No. 100.



Fuente: elaboración propia.

Autores como SPINELLA, María, et al²⁹⁴ mencionan que para procesos extractivos utilizaron semillas molidas con tamaños menores a 840 μm ; CASTEJÓN, N., LUNA, P. y SEÑORÁNS, F.J.,²⁹⁵ utilizaron tamaños de partícula menores 500 μm y RAMIREZ, Danibett, et al²⁹⁶ emplearon tamaños entre 0.6 mm y 0,250 mm (mallas 30 y 60 respectivamente), por lo que la muestra de semilla de aguacate tamizada

²⁹⁴ SPINELLA. Op. Cit.; p. 5

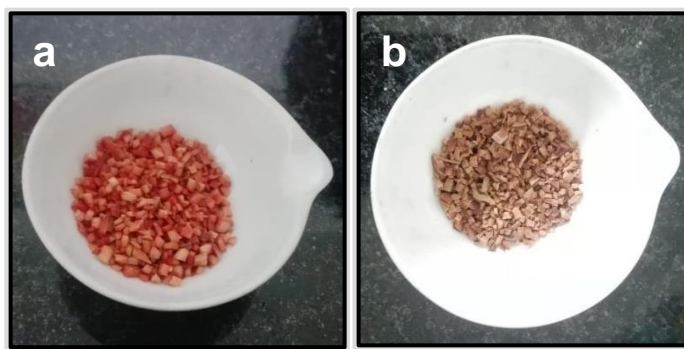
²⁹⁵ CASTEJÓN. Op. Cit.; p. 2976-2990

²⁹⁶ RAMIREZ, Danibett, et al. Influencia del tamaño de partícula y la velocidad de agitación sobre el rendimiento de pectina [en línea]. En: Revista Cubana de Farmacia. Marzo, 2016. vol. 50, no. 1. p. 101. [Consultado: 10 mayo 2019]. ISSN: 1561-2988. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75152016000100009

del actual proyecto, se encuentra respecto a tamaño de partícula, entre los rangos comúnmente utilizados en la literatura.

3.2.1.4 Determinación de humedad y materia volátil. Las semillas de aguacate (*Persea americana Mill.* var Hass), presentaron un contenido de humedad del 54,7%, determinado de acuerdo con la norma NTC 2228. Cabe señalar que, las semillas se obtuvieron como desperdicio del despulpado de la fruta, por lo tanto, tenían una gran cantidad de residuos como la cáscara y pulpa de la fruta, y es probable que estas impurezas incidieran en el aumento del contenido de humedad.

Imagen 32. a) Antes y b) Después de la determinación de humedad y materia volátil de las semillas recién despulpadas.



Fuente: elaboración propia.

Luego del proceso de secado descrito en la sección 2.2.4, las semillas fueron sometidas nuevamente a esta prueba, obteniendo un contenido de humedad del 12,5%, sin embargo, estudios han reportado un contenido de humedad inferior al 10%, como los realizados por AZADMARD *et al*²⁹⁷ y SPINELLA *et al*²⁹⁸ cuando se utilizan semillas en procesos extractivos. Como el material estudiado posee un contenido de humedad entre 10 – 13%, se puede almacenar por un periodo de 6 a 18 meses y es susceptible a daños mecánicos²⁹⁹.

Es necesario aclarar, que la humedad de las semillas es un factor que afecta la afinidad entre el aceite y la semilla, por lo que es un parámetro que define el rendimiento. Si las semillas están extremadamente secas, el aceite no se puede extraer eficazmente³⁰⁰, aunque, se ha demostrado que la baja humedad puede

²⁹⁷ AZADMARD. Op. cit. p. 1213.

²⁹⁸ SPINELLA. Op. Cit., p. 1-5

²⁹⁹ CABRERA, Edgar. En: Mississippi State University. [sitio web]. Mississippi: Importancia de la humedad en la vida de las semillas. [Consultado: 15 mayo 2019]. Archivo pdf. Disponible en: <https://ir.library.msstate.edu/bitstream/handle/11668/13219/K-40.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

³⁰⁰ BAILEY, Alton. Extracción de grasas y aceites [en línea]. España: Reverté, S. A, 2001. Aceites y grasas industriales. p. 422-473. [Consultado: 15 mayo 2019]. Disponible en: https://books.google.com.co/books?id=xFjGDCmLuKQC&pg=PA422&lpg=PA422&dq=BAILEY,+Alton.+Extracci%C3%B3n+de+grasas+y+aceites&source=bl&ots=HzKFIS1YQ3&sig=ACfU3U3VvKQ0w_RgU9bfaRi6n-

hacerlas más frágiles, logrando una mayor ruptura del tejido y aumentando la extracción de aceite³⁰¹. Por lo tanto, la humedad óptima de las semillas varía ampliamente según el método de extracción utilizado.

3.2.2 Caracterización semillas de aguacate. Tal como se mencionó en la sección 1.2, el estudio de las características físicas de los sólidos, permite la obtención de información para el dimensionamiento, adecuación, montaje y construcción de maquinaria, así como el control de procesos que manipulan este tipo de material agroindustrial.

Especies vegetales como el fruto de aguacate específicamente sus semillas, poseen una amplia variedad respecto a rasgos fisiológicos y morfológicos, esta diversidad es resultado de su evolución en el ambiente ecológico en el que crecen, donde rasgos como forma, color, tamaño de semilla, contenido de agua, composición química, entre otros, equivalen a algunas de las características que se ven afectadas por estas condiciones de desarrollo³⁰².

Los resultados de la caracterización que se presentan a continuación, hacen referencia a varios de los rasgos mencionados anteriormente.

Tabla 11. Resultados de la caracterización de semillas de aguacate variedad Hass.

PROPIEDAD	VALOR	
Diámetro Aritmético (mm)	31,7275	
Diámetro Geométrico (mm)	31,6964	
Esfericidad	0,9561	
Densidad en masa (g/mL)	1,1649	
Densidad Aparente Aireada (g/mL)	0,4948	
Densidad Aparente Empacada (g/mL)	0,5173	
% Compresibilidad	4,3478%	
Factor de forma	Diámetro aritmético	Diámetro geométrico
	0,6106	0,6124
Área Superficial (mm ²)	34,5314 cm ²	
Angulo de Reposo Dinámico (°)	35°	

Fuente: elaboración propia

3.2.2.1 Tamaño de partícula. Tal como se aprecia en la tabla 11, los valores para el diámetro aritmético y geométrico son 31,7275 mm y 31,6964 mm respectivamente. La información acerca de esta propiedad en la especie *Persea americana* Mill. Var Hass es escasa y generalizada, esto significa que los datos

awii1N_9A&hl=es&sa=X&ved=2ahUKEwiEjMi74b7jAhXwp1kKHWM3DXgQ6AEwA3oECAkQAQ#v=onepage&q=BAILEY%2C%20Alton.%20Extracci%C3%B3n%20de%20grasas%20y%20aceites&f=false. ISBN. 84-291-7901-1

³⁰¹ RAMOS. Op. cit., p. 91

³⁰² CITMA, IGT e INFOGED. Germinación de nuestras semillas: factor de éxito en la restauración ecológica. En: Repositorio Geotech - Experiencias Proyecto Sabana Camagüey paisajes productivos cap 10 [sitio web]. Cuba: Geotech. [Consultado: 25 mayo 2019]. Archivo pdf. Disponible en: <http://repositorio.geotech.cu/jspui/handle/1234/659>

encontrados a cerca de este fruto, normalmente mencionan que la semilla posee un tamaño mediano tal como lo hace la sección 1.2.1; sin embargo, los valores encontrados, permitieron cuantificar el tamaño de esta parte del fruto. Dimensiones como las encontradas en materiales agrícolas, varían considerablemente según la variedad, ubicación y temporada de crecimiento del fruto³⁰³, por lo tanto, es preciso aclarar que los resultados presentados, pertenecen a una muestra de semillas de aguacate variedad Hass, con proveniencia desconocida, que corresponde a un residuo agroindustrial recolectado en el mercado local de la plaza de Corabastos, ciudad de Bogotá (Colombia).

Autores como DURSUN, I.; TUGRUL, K. y DURSUN E.³⁰⁴, mencionan que el contenido de humedad de las semillas de remolacha es proporcional al tamaño de sus dimensiones ortogonales, por lo cual, el promedio de los diámetros aritméticos y geométricos encontrados para esta especie, incrementa cuando el contenido de humedad es mayor. Teniendo en cuenta la relación reportada, y de acuerdo a la caracterización realizada del actual proyecto, se establece que para los diámetros aritmético y geométrico con valores de 31,72 mm y 31,69 mm respectivamente, el valor de humedad de la semilla de aguacate variedad Hass recién despulpada, corresponde a 54,7%. Pese a lo mencionado, no se reportan datos de dimensiones ortogonales luego de algún proceso de secado para esta especie y por lo tanto no se comprueba la afirmación realizada por los autores.

Debido a que las dimensiones: largo, ancho y espesor en las partículas seleccionadas tienen aproximadamente la misma magnitud tal como lo muestra el Anexo A, puede considerarse la semilla como un material voluminoso según la clasificación realizada por MCCRONE, Walter y DELLY, John Gustav.³⁰⁵

Autores como GALVEZ, Luisa, *et al.*³⁰⁶, mencionan que el tamaño de la semilla podría estar relacionado con la capacidad de almacenamiento de moléculas como almidón, proteínas y lípidos, por lo que semillas con gran tamaño podrían sobresalir en su contenido de nutrientes. De acuerdo a esto, la semilla de aguacate variedad Hass puede corresponder a un material grueso, con dimensiones del orden de

³⁰³ OKLAHOMA STATE UNIVERSITY. Op. Cit.; p. 12

³⁰⁴ DURSUN. Op. Cit., p. 151

³⁰⁵ MCCRONE, Walter y DELLY, John Gustav. The Particle Atlas: An encyclopedia of techniques for small particle identification. Citado por: KUDRA, Tadeusz y STRUMILLO, Czeslaw. En: Thermal Processing of Bio-materials [en línea]. Amsterdam: Gordon and Breach Science Publishers, 1998, vol. 10, p. 55 [Consultado: 25 Mayo 2019]. Disponible en internet:

https://books.google.com.co/books?hl=es&lr=&id=00pZDwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP1&dq=Thermal+Processing+of+Bio-materials&ots=m1J_28tw5o&sig=et2rZiTb2RoOnV1IUjZVhaapisQ#v=onepage&q=Thermal%20Processing%20of%20Bio-materials&f=false

³⁰⁶ GALVEZ, Luisa, *et al.* Caracterización del tamaño de semilla nodriza de aguacate Esther y el desarrollo de sus plántulas [en línea]. En: Revista Fitotecnica Mexicana. Marzo, 2016. Vol. 39, no. 1. p. 81 [Consultado: 25 Mayo 2019]. ISSN: 0187-7380. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-73802016000100012

milímetros (mm) rico en almidón, fibra, fitoquímicos, compuestos fenólicos y demás sustancias no nitrogenadas tal como lo menciona SALGADO, J.M.³⁰⁷

3.2.2.2 Factor de forma. De acuerdo a lo mencionado en la sección 1.2.3 la forma de las partículas corresponde a un atributo físico importante en operaciones de transporte o en la deposición de un material en un lugar específico. Autores como GREEN, D. y PERRY, R. indican que, para partículas no esféricas, es necesario considerar el término de factor de forma³⁰⁸.

Tal como lo muestra la tabla 11, los resultados hallados para esta propiedad, equivalen a 0,6106 y 0,6124 utilizando el diámetro aritmético y geométrico respectivamente; éstos valores representan la desviación de la forma de las partículas respecto a la forma esférica perfecta³⁰⁹, de modo que el resultado arrojado, ratifica que la muestra analizada corresponde a un sólido no esférico.

3.2.2.3 Esfericidad. La esfericidad al igual que el factor de forma, corresponde a uno de los parámetros que describe la forma de los sólidos³¹⁰. Tal como se mencionó en la sección 1.2.4, cuando una partícula tiene una esfericidad igual a 1, se considera una esfera. De acuerdo a los resultados listados en la tabla 11, la esfericidad de las partículas seleccionadas en la caracterización del actual proyecto, equivale a 0,9561; el valor anterior es próximo al reportado en la literatura para una esfera perfecta, por lo cual se reafirma que la muestra analizada no posee forma esférica, pero que su semejanza respecto a la misma, es elevada.

Autores como DURSUN, I.; TUGRUL, K. y DURSUN E³¹¹ afirman que la esfericidad de las semillas de remolacha disminuye, cuando el contenido de humedad se reduce. ALTUNTAS, E.; OZGOZ, E. y FARUK, O.³¹², también reportan la proporcionalidad entre éstas dos propiedades para semillas de fenogreco (*Trigonella foenum-graceum* L.). Sin embargo, en la caracterización realizada para el actual proyecto, no se estudió la relación entre contenido de humedad y esfericidad.

³⁰⁷ SALGADO, J.M. *et al.* The avocado oil (Persea americana Mill) as a raw material for the food industry. Citado por: FONSECA, Patricia, *et al.* Avocado: characteristics, health benefits and uses [en línea]. En: Ciencia Rural, Santa Marta. Abril, 2016, vol. 46, no.4, p. 751. [Consultado: 26 Mayo 2019]. ISSN: 1678-4596. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1590/0103-8478cr20141516>

³⁰⁸ GREEN. Op. cit., p. 12

³⁰⁹ KUDRA, Tadeusz y STRUMILLO, Czeslaw. Thermal Processing of Bio-materials [en línea]. Amsterdam: Gordon and Breach Science Publishers, 1998, vol. 10, p. 55. [Consultado: 26 Mayo 2019]. Disponible en: https://books.google.com.co/books?hl=es&lr=&id=00pZDwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP1&dq=Thermal+Processing+of+Bio-materials&ots=m1J_28tw5o&sig=et2rZiTb2RoOnV1IUjZVhaapisQ#v=onepage&q=Thermal%20Processing%20of%20Bio-materials&f=false

³¹⁰ UTHUS. Op. Cit.; p. 2

³¹¹ DURSUN. Op. Cit.; p. 152

³¹² ALTUNTAS, E.; OZGOZ, E. y FARUK, O. Some physical properties of fenugreek (*Trigonella foenum-graceum* L.) seeds [en línea]. En: Journal of Food Engineering, Noviembre, 2005, vol. 71, p. 39. [Consultado: 26 Mayo 2019]. ISSN: 0260-8774. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2004.10.015

3.2.2.4 Área superficial. El área superficial es función de la longitud, el ancho y espesor de las semillas tal como lo muestra el cálculo de esta propiedad en la sección 2.2.3.2. Hasta el momento, el valor de esta propiedad para las semillas de aguacate *Persea americana* Mill. Var Hass no se encuentra registrado, sin embargo, el actual proyecto, permitió cuantificar el área superficial obteniendo un valor de 34,5314 cm².

De acuerdo a lo mencionado por la UNIVERSIDAD DE OKLAHOMA³¹³, el tamaño y el área de superficie afectan la tasa de pérdida de humedad durante el secado de semillas, granos y otros materiales, de forma que esta última propiedad se considera importante para el modelado de procesos de transferencia de masa y calor durante el enfriamiento y secado de materiales sólidos, tal como se mencionó en la sección 1.2.2.

ALTUNTAS, E.; OZGOZ, E. y FARUK, O.³¹⁴, afirman que el área superficial de semillas de fenogreco (*Trigonella foenum-graceum* L.) incrementa de 18,09 mm² a 22,18 mm² cuanto el contenido de humedad pasa de 8,9% a 21,1%, por lo que se reporta la proporcionalidad entre éstas dos propiedades. Pese a lo mencionado, en el actual proyecto no se verificó la relación entre estas dos propiedades; el valor de área superficial hallado para la especie *Persea americana* Mill. Var Hass corresponde a un valor de humedad del 54,7%.

3.2.2.5 %Compresibilidad. Según lo mencionado en la sección 1.2.7, la determinación de esta propiedad permite evaluar la fluidez de una muestra de partículas sólidas; teniendo en cuenta los resultados presentados en la tabla 12, el porcentaje de compresibilidad de la muestra seleccionada de semillas de aguacate, equivale a 4,35%.

El valor anterior se ubicó en la clasificación de fluidez establecida por UNITED STATES PHARMACOPEIA³¹⁵, la cual se presenta a continuación:

Tabla 12. Escala de fluidez.

INDICE DE COMPRESIBILIDAD	CLASIFICACIÓN DE FLUJO
≤ 10	Excelente
11-15	Bueno
16-20	Justo
21-15	Transitable
26-31	Pobre

³¹³ OKLAHOMA STATE UNIVERSITY. Op. Cit.; p. 48

³¹⁴ ALTUNTAS. Op. Cit.; p. 40.

³¹⁵ UNITED STATES PHARMACOPEIA. Op. cit., p. 4.

Tabla 13. (Continuación)

INDICE DE COMPRESIBILIDAD	CLASIFICACIÓN DE FLUJO
32-37	Muy pobre
>38	Muy, muy pobre

Fuente: UNITED STATES PHARMACOPEIA, USP. Powder Flow. The United States Pharmacopeia Convention. [Sitio web]. Estados Unidos: USP. [Consultado: 23 mayo 2019]. Archivo pdf. Disponible en: https://www.usp.org/sites/default/files/usp/document/harmonization/gen-chapter/g05_pf_30_6_2004.pdf

De acuerdo a la tabla anterior, la muestra trabajada posee un flujo “Excelente” por lo que las semillas se caracterizan por su facilidad de deslizarse o rodar sobre una superficie. Cuando las partículas tienen una fluidez característica, como el caso de la muestra trabajada (semilla de aguacate), las interacciones entre las partículas no son tan relevante lo que permite que los sólidos fluyan libremente; por lo tanto, los valores de la densidad aparente aireada y empacada son muy cercanos entre sí³¹⁶, tal como se muestra en la tabla 11.

Este parámetro representa una medida indirecta de la densidad aparente, tamaño, forma, área superficial, contenido de humedad y cohesión de los materiales sólidos³¹⁷. Sin embargo, relaciones entre el porcentaje de compresibilidad y las propiedades mencionadas no se estudiaron en el actual proyecto.

3.2.2.6 Densidad aparente aireada y empacada. Valores sobre densidad aparente y empacada para la semilla de aguacate *Persea americana* Mill. Var Hass no han sido reportados, no obstante, de acuerdo al procedimiento descrito en las secciones 2.2.3.5, se cuantificaron estos parámetros obteniendo valores de 0,4948 g/ml y 0,5173 g/ml para la densidad aparente << aireada y empacada respectivamente.

Autores como OKLAHOMA STATE UNIVERSITY³¹⁸, mencionan que la densidad aparente corresponde a una propiedad afectada por factores como la forma, la distribución de tamaño de las partículas, el método de llenado de los sólidos (cuando se almacenan a granel), y la humedad; respecto a esta última, ORDOÑEZ, Matías; GELY, María y PAGANO, Ana³¹⁹, resaltan que la relación entre la humedad y la densidad aparente es inversamente proporcional, por lo tanto, una disminución de la densidad puede atribuirse a que éste parámetro representa el volumen de los sólidos incluyendo los espacios vacíos entre los mismos, de manera que el volumen de aire se incrementará en granos de mayor humedad y tamaño, ya que poseen

³¹⁶ FARMACOPEDIA DE LOS ESTADOS UNIDOS MEXICANOS. Densidad aparente y densidad compactada en polvos. En: Repositorio, documentos farmacopeia [Sitio web]. México: FEUM. [Consultado: 23 mayo 2019]. Archivo PDF. Disponible en: <https://www.farmacopea.org.mx/Repositorio/Documentos/258.pdf>.

³¹⁷ UNITED STATES PHARMACOPEIA. Op. Cit.; p. 3

³¹⁸ OKLAHOMA STATE UNIVERSITY. Op. Cit.; p. 21- 24

³¹⁹ ORDOÑEZ, Matías; GELY, María y PAGANO, Ana. Estudio de las propiedades físicas y de la cinética desecado de granos de maíz colorado duro [en línea]. En: Avances en Ciencias e Ingeniería. Septiembre, 2012, vol. 3, p. 160. [Consultado: 23 mayo 2019]. ISSN: 0718-8706. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=4052717>

menor capacidad de compactación respecto a aquellos sólidos que son pequeños y secos. Pese a lo mencionado, en el actual proyecto no se verifica esta afirmación, sin embargo, se estima que la muestra de semillas de aguacate es propensa a comportarse de esta manera (relación inversamente proporcional entre humedad y densidad aparente), pues según los resultados anteriores (sección 3.2.2) para las distintas variedades estudiadas, propiedades como el tamaño de partícula se relacionan directamente con el contenido de humedad.

Los resultados obtenidos indican que el porcentaje de aumento de la densidad aparente empacada respecto a la aireada, corresponde al 2,25%, valor que simula el comportamiento físico de estos parámetros, en el sentido de que efectivamente se produce un aumento en la densidad aparente empacada debido a la disminución del volumen de los sólidos por los golpes mecánicos a los que fueron sometidos y por lo tanto por el aumento del grado de compactación. Sin embargo, debido a que esta medición se realizó con la pulpa recién despulpada, el contenido de humedad corresponde entonces al 54,7%. La leve reducción que se presentó entre las densidades, puede ser resultado de la poca capacidad de compactamiento que tienen las semillas al corresponder a un material grueso del orden de mm, y no haberse sometido a ningún proceso de secado.

3.2.2.7 Angulo de reposo. Autores como GANESANA V.; ROSENTRATERB, K. y MUTHUKUMARAPPANA K³²⁰ afirman que el ángulo de reposo estático es directamente proporcional al contenido de humedad, sin embargo, en la realización de este proyecto, no se verificó esta afirmación.

United States Pharmacopeia³²¹ estableció una clasificación que relaciona el ángulo estático con la capacidad de flujo de las partículas. La tabla se presenta a continuación:

Tabla 14. Propiedades de flujo y correspondiente ángulo de reposo.

PROPIEDAD DE FLUJO	ÁNGULO DE REPOSO (°)
Excelente	25-30
Bueno	31-35
Justo: Sin necesidad de ayuda	36-40
Pasable (Se puede colgar)	41-45
Pobre (Con necesidad de agitación y vibración)	46-55
Muy pobre	56-65
Muy, muy pobre	>66

Fuente: UNITED STATES PHARMACOPEIA, USP. Powder Flow. The United States Pharmacopeia Convention. [Sitio web]. Estados Unidos: USP. [Consulta 23 mayo 2019]. Archivo PDF. Disponible en Internet en: https://www.usp.org/sites/default/files/usp/document/harmonization/gen-chapter/g05_pf_30_6_2004.pdf

³²⁰ GANESANA. Op. Cit.; p.429

³²¹ UNITED STATES PHARMACOPEIA. Op. cit., p. 2

Como se muestra en la tabla 11 el ángulo de reposo se calculó en función del ángulo de reposo dinámico, obteniendo un valor de 34° , éste valor clasifica la muestra de semillas como material de “Buen” flujo, debido a esto, la calidad de los sólidos es favorable puesto que las fuerzas estáticas de fricción generadas por la fricción partícula-pared y la acción interpartículas, son fácilmente vencidas, situación que resulta útil cuando se genera el deslizamiento de sólidos por una rampa para su descarga en un depósito a granel³²².

Imagen 33. Ángulo de reposo dinámico.



Fuente: elaboración propia.

El resultado encontrado para esta propiedad, coincide con el determinado para el índice de compresibilidad donde también se caracteriza la muestra trabajada, como material de “excelente” flujo. Por lo cual, se les atribuye a las semillas, la habilidad de deslizarse unas sobre otras debido a la forma y superficie lisa que éstas poseen. Al realizar la determinación del ángulo de reposo, se observó la tendencia de las semillas a rodar en vez de deslizarse sobre la superficie plana, este comportamiento puede relacionarse con la alta esfericidad que posee la muestra trabajada.

3.2.3 Extracción por hidrodestilación asistida con microondas. Como se describe en el literal (3.1.1), se decide probar la aplicabilidad de la metodología sugerida, se debe tener en cuenta que, aunque el rango de potencia se estable en 600 y 700 W, el microondas funciona a un nivel de potencia de 630 W (60%) y 735 W (70%) debido a la capacidad de irradiación y a la configuración del equipo utilizado. El experimento se llevó a cabo durante un tiempo inicial de 60 minutos con intervalos de 15 minutos, dando 3 minutos de reposo entre periodo para evitar un sobrecalentamiento del dispositivo.

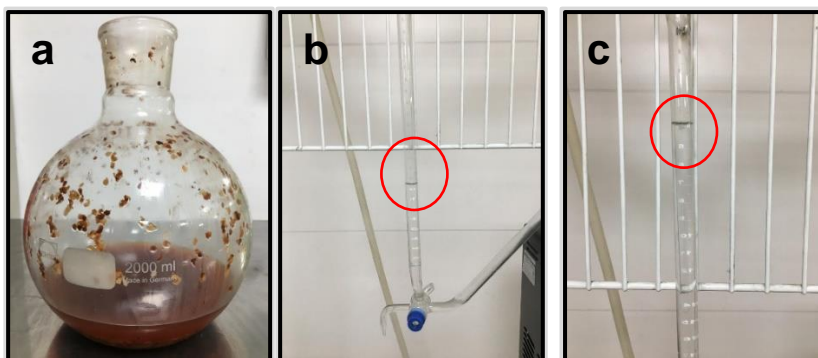
Sin embargo, con la proporción seleccionada de Etanol (100%) para la extracción, no se observó separación de aceite, por lo que se hicieron mezclas etanol: agua (50:50) de acuerdo con la información proporcionada por los autores FANG,

³²² IXTAINA. Op. Cit.; p. 22

Xinsheng *et al*³²³, quienes realizaron un estudio para la extracción, identificación y cuantificación de compuestos fenólicos usando etanol: agua (50: 50) como disolvente, alcanzando los rendimientos más altos para cada compuesto y la mayor actividad antioxidante. Además, investigaciones demuestran que, debido a sus propiedades de absorción de energía, el agua juega un papel importante en el desempeño de los procesos asistidos por microondas, ya que causa un aumento de la temperatura dentro de la muestra, lo que provoca una ruptura dentro de las células por la evaporación del líquido y la presión acumulada, que permite que el protoplasma sea más permeable y los solutos sean más accesibles al solvente.

A través de estos parámetros, las primeras gotas de EO se observaron a los 45 minutos, después de lo cual no se extrajo más aceite esencial, aunque el tiempo se prolongó durante 30 minutos más de lo establecido. Por otro lado, se encontró que la variación de la potencia de microondas no tuvo un efecto significativo en el rendimiento de extracción.

Imagen 34. a) Producto de la extracción por hidrodestilación; Aceite extraído con las potencias de irradiación implementadas. b) 630 W y c) 735 W.



Fuente: elaboración propia.

- **Nota:** Los círculos rojos en la imagen son para indicar la presencia casi inexistente de la fase de aceite extraída.

Conforme a los resultados obtenidos se puede observar que el rendimiento del aceite no fue superior al 0.01%, lo que demuestra que el MAHD no es el método de extracción más adecuado para extraer aceite esencial a partir de las semillas de aguacate (*Persea americana* Mill. Var. Hass) según las condiciones establecidas. Esto se debe a que no es posible controlar la temperatura de operación dentro del horno microondas y algunos autores señalan que la disminución en el rendimiento

³²³ FANG, Xinsheng *et al.* Simultaneous extraction, identification and quantification of phenolic compounds in *Eclipta prostrata* using microwave-assisted extraction combined with HPLC–DAD–ESI–MS/MS [en línea]. *En: Food Chemistry*. Diciembre, 2015, vol. 188, p. 527-536. [Consultado: 04 febrero 2019]. ISSN:0308-8146. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.05.037>

de extracción se encontró a temperaturas superiores a los 110 °C debido a la inestabilidad de los compuestos y la consiguiente degradación térmica de los compuestos bioactivos³²⁴. Además, estas extracciones se realizan a una presión que permite temperaturas superiores a los puntos de ebullición, y el aumento de la temperatura hace que la potencia del disolvente aumente junto con una caída de la viscosidad y la tensión superficial³²⁵.

Por otra parte, el rendimiento, el tiempo de extracción, la composición química y la calidad de los aceites esenciales, están influenciados por parámetros tales como las condiciones ambientales de crecimiento, la variedad genética y la parte particular de la planta utilizada para la extracción³²⁶.

3.2.4 Extracción por ultrasonido. De acuerdo a la selección de parámetros desarrollada en la primera parte de este capítulo, se realizó el experimento de extracción de aceite utilizando la semilla de aguacate *Persea americana* Mill variedad Hass. El experimento se realizó por triplicado, empleando 10 g de semilla molida en 100 mL de etanol al 96% siguiendo la metodología descrita en la sección 2.2.9.

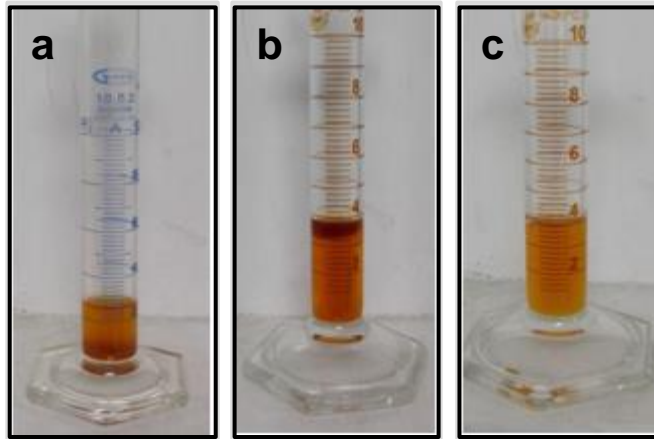
De los tres ensayos realizados a una temperatura de 60°C, 40 kHz de potencia y un periodo de 1 hora, solo se observó una separación de fases en uno de los experimentos, la fracción de fase oleosa aparente correspondía a 0,4 mL (ensayo 2). Antes de observar este resultado, las muestras sometidas a ondas ultrasónicas se rotavaporaron (con el fin de eliminar el solvente) hasta obtener un volumen de aproximadamente 4 mL, de manera que se concentrara lo máximo posible el extracto de interés, y se evitara la pérdida y secado de la muestra por contacto prologado con el equipo. Las imágenes de los ensayos a, b y c se muestran a continuación:

³²⁴ KUSUMA, H y MAHFUD, M. Microwave-assisted Hydrodistillation for Extraction of Essential Oil from Patchouli (*Pogostemon cablin*) Leaves. Op. cit., p. 85.

³²⁵ CASTEJÓN, LUNA y SEÑORÁNS. Op. cit., p. 79.

³²⁶ JIMÉNEZ. Op. cit. p. 90

Imagen 35. Extracto obtenido por ultrasonido a una temperatura de 60 °C. a) Ensayo 1; b) Ensayo 2; c) Ensayo 3.



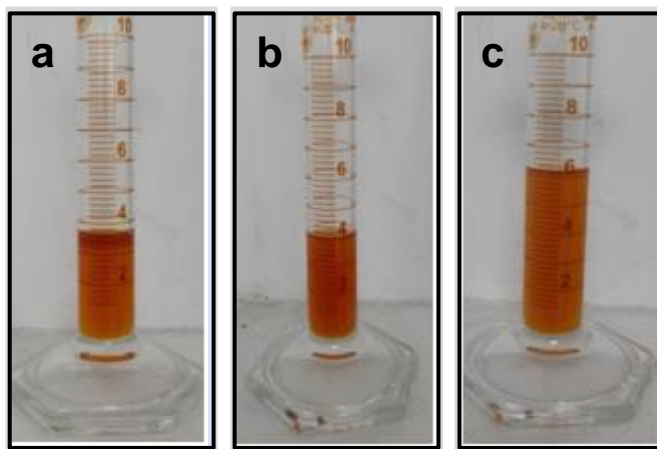
Fuente: elaboración propia.

Debido a la poca reproducibilidad de los resultados obtenidos, y a la falta de información respecto a procesos extractivos en la semilla de aguacate variedad Hass, se decidió realizar un experimento adicional evaluando dos rangos de temperaturas diferentes: 70°C y 50°C, éstos valores se seleccionaron de acuerdo con los parámetros consignados en los cuadros 6 y 7. En el caso de la primera temperatura, esta se eligió según el análisis desarrollado en la sección 3.1.2, donde se menciona que un aumento de temperatura favorece el proceso extractivo; 70°C corresponde a la siguiente mayor temperatura luego de la establecida en la selección de parámetros, y a la máxima registrada en el listado de artículos presentado en el capítulo anterior.

Pese a lo anterior, autores como LAVILLA, Isela y BENDICHO, Carlos³²⁷, especifican que para el proceso de extracción utilizando ultrasonido, temperaturas superiores a 50°C pueden disminuir los efectos sonoquímicos en el proceso, debido a que se alcanza una presión de vapor más baja dentro de las cavidades formadas durante la extracción. Por lo cual, se decide evaluar una temperatura de 50°C, de manera que pueda comprobarse si bajo esta condición, el proceso extractivo demostraba cambios significativos, confirmando simultáneamente la afirmación realizada por los autores. Los ensayos se realizaron por triplicado.

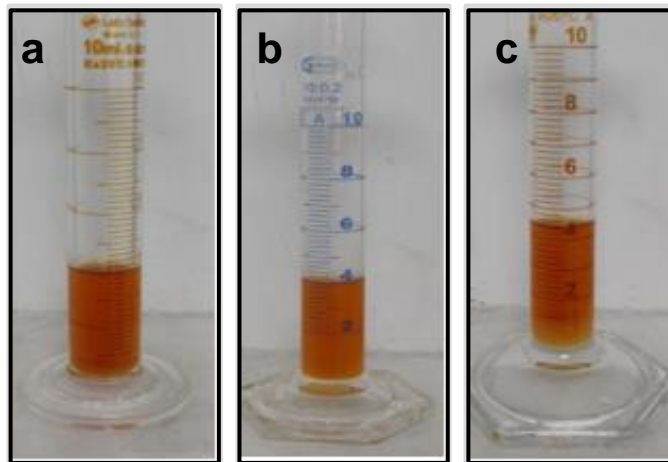
³²⁷ LAVILLA, BENDICHO. Op. cit., p. 297

Imagen 36. Extracto obtenido por ultrasonido a una temperatura de 50 °C. a) Ensayo 1; b) Ensayo 2 y c) Ensayo 3.



Fuente: elaboración propia.

Imagen 37. Extracto obtenido por ultrasonido a una temperatura de 70 °C. a) Ensayo 1; b) Ensayo 2 y c) Ensayo 3.



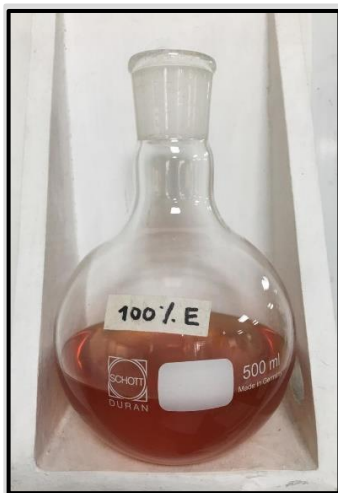
Fuente: elaboración propia.

Según las imágenes 35 y 36, de los ensayos realizados a 50°C, solo se obtuvo una separación aparente de fase oleosa, siendo 0,4 mL el volumen de ésta última (ensayo 1), mientras que a 70°C no se observó ningún resultado de extracción aparente de aceite. Los rangos de temperaturas de 50°C y 60°C no mostraron cambios significativos entre ellos en términos de reproducibilidad y rendimiento, por lo que se confirmó que los efectos sonoquímicos en las muestras no se redujeron cuando se excedió la temperatura límite de 50°C. Teniendo en cuenta lo anterior, se observó que procesos extractivos utilizando baño ultrasónico bajo las

condiciones reportadas en esta sección e implementando como solvente etanol son poco reproducibles, o nulos cuando la temperatura es superior a los 60°C. Debido a esto, se descartó esta técnica extractiva.

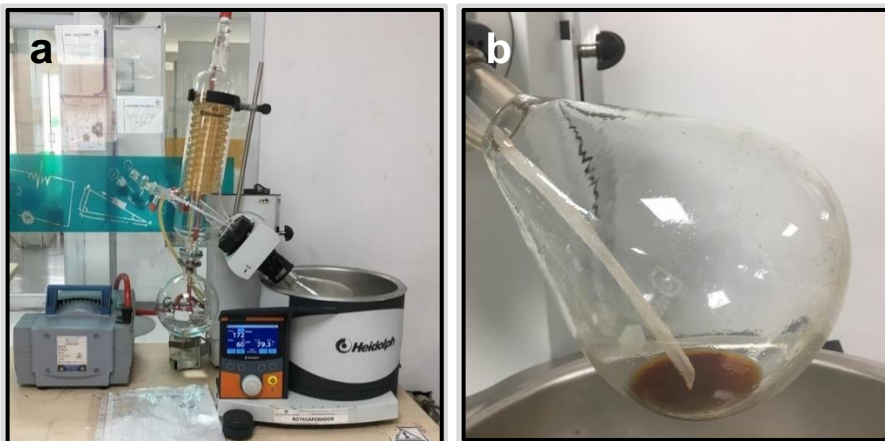
3.2.5 Extracción por soxhlet. Aplicando la metodología descrita en el literal 2.2.8, se recogió el extracto etanólico luego del proceso de extracción soxhlet y se evaporó el disolvente tal como se muestra a continuación:

Imagen 38. Extracto etanólico con Malla No. 30.



Fuente: elaboración propia.

Imagen 39. a) Rotavaporador; b) Aceite extraído por Soxhlet.

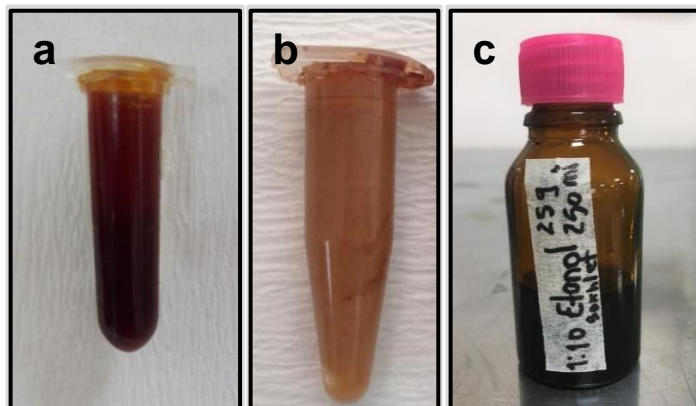


Fuente: elaboración propia.

El aceite obtenido mediante esta técnica, presentó una coloración café, presencia de resina y una consistencia semisólida. El contenido recogido de los ensayos

realizados es de aproximadamente 2.6559 g arrojando un rendimiento de 10,623%; la sustancia oleosa fue almacenada en un recipiente ámbar a temperatura ambiente.

Imagen 40. Aceite de semilla de aguacate (*Persea americana* Mill. var Hass). a) Aceite; b) Resina y c) Recipiente de almacenamiento.



Fuente: elaboración propia.

Los resultados obtenidos en términos de rendimiento, fueron mayores al compararse con los datos reportados por los autores BARRERA, Rosa y ARRUBLA, Juan³²⁸ (8,47%), quienes coinciden en la extracción de aceite de semilla de aguacate, pero utilizando como materia prima la variedad Lorena y hexano como disolvente por un periodo de 24 horas; a este comportamiento, se le atribuye el tamaño de partícula empleado (malla No. 30) que mejora la interacción muestra: solvente. Adicionalmente, ACOSTA, Martha³²⁹ señala que la cantidad de grasa presente en aguacate variedad Hass (75,22% b.s.) es mayor que el contenido de las variedades Choquette, Santana, Lorena y Criollo (todas cultivadas en el departamento del Tolima), con porcentajes de grasa de 56,23% b.s, 34,52% b.s, 33,6% b.s y 30,11% b.s respectivamente. Otros autores como KITTIPHOOM, S. y SUTASINEE, S³³⁰, mencionan que la polaridad, temperatura de ebullición del disolvente empleado, y la interacción entre este último y el soluto, son factores que pueden afectar tanto el rendimiento extractivo como la composición del aceite obtenido.

La implementación de etanol como disolvente, resultó ser una buena alternativa para la extracción de aceite, logrando rendimientos considerables, en un periodo de tiempo de 6 horas. Los resultados de la investigación también muestran, que el aceite extraído de las semillas de aguacate a través del método Soxhlet produce rendimientos más altos en comparación con la extracción por ultrasonido y la

³²⁸ BARRERA. Op. Cit., p. 38

³²⁹ ACOSTA, Op. cit., p. 71-72.

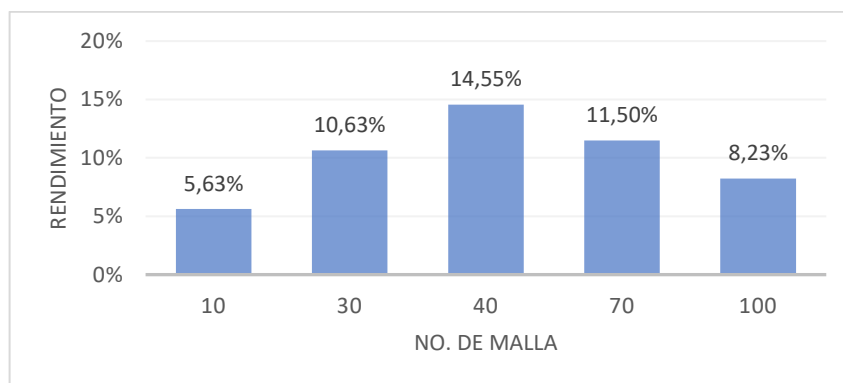
³³⁰ KITTIPHOOM. Op. Cit., p. 1146

hidrodestilación asistida por microondas. Algunos autores, indican que el método de Soxhlet induce una mejor transferencia de masa lo que produce un aumento en la solubilidad y en la velocidad de difusión.

3.2.6 Rendimiento. El contenido del aceite en la semilla depende de las condiciones agroclimatológicas del lugar donde se cultiva y la variedad; debido a que las semillas utilizadas corresponden a un residuo agroindustrial proveniente de mercado local de la plaza de Corabastos Bogotá (Colombia), se desconoce las condiciones utilizadas en su cultivo y crecimiento. Sin embargo, bajo los parámetros utilizados en el laboratorio para la extracción de aceite (Etanol como disolvente, temperatura de 70°C, 6 horas de extracción y proporción muestra: solvente equivalente a 1:10), los ensayos realizados arrojaron un rendimiento de 10,6237%, obteniendo 2.6559 g de aceite aproximadamente, por 25 g de semilla utilizada con un tamaño de partícula de 0,5944 mm (malla No. 30).

Tal como se mencionó en la sección 3.2.5, los resultados obtenidos son mayores que los resultados publicados anteriormente por BARRERA, Rosa y ARRUBLA, Juan quienes trabajan con la misma materia prima (semilla de aguacate) pero de diferente variedad (Lorena). Con el objetivo de ahondar en la relación entre el tamaño de partícula de la semilla y el rendimiento de extracción, se realizó un pequeño experimento que permitió variar el tamaño de la semilla bajo las condiciones mencionadas, y evaluar el efecto de este cambio en las cantidades de aceite luego de la extracción, los resultados se presentan a continuación:

Diagrama 1. Relación tamaño de partícula de material y rendimiento.



Fuente: elaboración propia

Tal como se observa en el gráfico anterior, el tamaño de partícula tiene efectos significativos sobre el rendimiento de extracción, siendo este último máximo (14,55%) cuando se utiliza un No. de malla 40 (0,4191 mm); los tamaños de partícula entre la malla No. 10 y la malla No. 40 reflejan el comportamiento

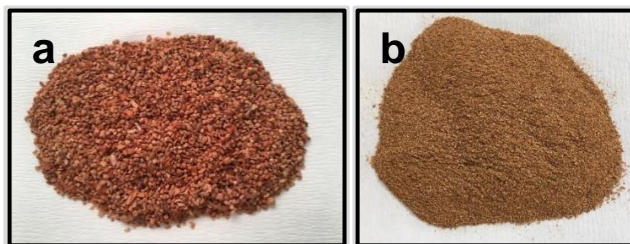
mencionado en los GÓMEZ, Juliana³³¹ y RAMIREZ, Danibett, *et al*³³², quienes mencionan que una disminución del tamaño de material, aumenta la superficie de contacto entre el solvente y el soluto, facilitando la transferencia de masa en el proceso y por lo tanto la eficiencia de extracción, sin embargo, éstos autores también afirman que cuando el tamaño de la materia prima es muy pequeño, las partículas tienden a poseer amplia cohesión entre ellas, por lo que se forman aglomeraciones difíciles de romper por el solvente, situación que puede causar una disminución del rendimiento de extracción. Este comportamiento se refleja en el actual estudio cuando se utilizan tamaños de partículas menores que 0,4191 mm obteniendo una reducción del 6,32% (a partir del máximo rendimiento obtenido) al utilizar material de la malla No. 100 (0,1499 mm).

3.2.6.1 Tamaño de muestra. El tamaño de partícula tienen repercusiones en la transferencia de masa de diversos procesos extractivos; las partículas más pequeñas proporcionan un mejor contacto entre la matriz de la planta y el solvente, garantizando una mayor área de superficie, y por lo tanto un mejor contacto entre la semilla y el solvente, condición que puede mejorar la extracción hasta cierto límite, pues partículas muy pequeñas pueden apelmazarse entre ellas, dificultando la extracción (tal como se mencionó en la sección 3.2.6). El tamaño de las partículas también influye en la velocidad de calentamiento en relación con la profundidad de penetración.

Debido a lo mencionado, el material debe ser previamente molido o macerado para permitir una mayor área de contacto entre el sólido y el solvente.

Las semillas trituradas o sus partículas convertidas en trozos muy finos, facilitan la extracción con disolvente, tanto por el efecto de rompimiento ejercido por la trituración, como por la disminución de las distancias que deben recorrer el aceite y el disolvente, dentro y fuera de la semilla.

Imagen 41. Tamaño de partícula. a) Malla No. 12 y b) Malla No. 30.



Fuente: elaboración propia.

³³¹ GÓMEZ, Juliana. Caracterización granulométrica de un producto comercial en polvo (suplemento dietario) y evaluación de la capacidad de dispersión en agua. [en línea]. Tesis para optar por el título de Pregrado en Química Farmacéutica. Universidad ICESI, 2016. p. 39. [Consultado: 10 julio 2019]. Disponible en: https://repository.icesi.edu.co/biblioteca_digital/bitstream/10906/81963/1/TG01475.pdf

³³² RAMIREZ. Op, cit., p. 103

3.2.7 Caracterización del aceite. La siguiente tabla muestra los valores promedio de cada una de las propiedades fisicoquímicas determinadas en el estudio en comparación con la CODEX ALIMENTARIUS o Código Alimentario, que es un conjunto de normas, directrices y códigos de prácticas aprobadas y establecidas por la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura (FAO) y la Organización Mundial de la Salud (OMS)³³³.

Tabla 15. Características fisicoquímicas de los aceites vegetales crudos.

PROPIEDAD	CODEX	DATOS EXPERIMENTALES
Densidad (g/mL)	0.91-0.92	0.9152
Índice de refracción (ND a 25°C)	1.465-1.474	1.4661
Índice de saponificación (mg KOH / g)	184-196	152.4456
Índice de yodo (cg I / g)	75-94	94.3905
Índice de peróxidos (mEq / kg)	15	17.3771
Índice de acidez (mg KOH / g)	4	4.2797
Materia no saponificable (g/kg)	≤120	86.8665

Fuente: CODEX ALIMENTARIUS. Norma para aceites vegetales específicos. CODEX STAN 210-1999.

3.2.7.1 Densidad. Como se muestra en la tabla 14, el aceite de semilla de aguacate (*Persea americana* Mill. var Hass) presentó una densidad promedio de 0.9152 g/mL. En relación con las densidades reportadas, se encuentra dentro de los parámetros (0.91-0.92 g/mL) establecidos por las normas CODEX para aceite de aguacate. Esta propiedad es importante ya que relaciona la masa de la sustancia con su volumen, por lo que se utiliza para determinar las dimensiones de equipos y el flujo. Además, se usa como índice de polimerización en el caso de los aceites³³⁴. Pese al procedimiento descrito en la sección 2.2.12.1, fue necesario la separación de resina del aceite obtenido para la determinación de ésta propiedad (pues ensayos realizados previamente, arrojaban resultados de densidades superiores a la del agua), por lo cual, se realizó el procedimiento propuesto por RAJANTEREH, Yuvanesh³³⁵, donde el aceite esencial extraído se solubilizó en 6 mL de metanol, la mezcla se calentó gradualmente a 40°C durante un periodo de 15 minutos, y luego se sometió a refrigeración a -15°C durante 24 horas. Después de esto, las moléculas de resina precipitaron y se separaron por filtración al vacío; la sustancia oleica se introdujo en el rotaevaporador para la eliminación de metanol. Bajo las condiciones descritas, se realizó la medición de la densidad.

³³³ ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA ALIMENTACIÓN Y LA AGRICULTURA. Codex Alimentarius [en línea]. [Consultado: 25 agosto 2019]. Disponible en: <http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/es/>

³³⁴ RINCÓN, Op. cit., p. 17.

³³⁵ RAJANTEREH. Op. Cit., p. 23

3.2.7.2 Índice de refracción. Para el aceite de semilla de aguacate (*Persea americana* Mill. var Hass), el valor promedio obtenido para el índice de refracción es 1.4661, que se encuentra dentro de los límites (1.465-1.474) establecidos por las normas CODEX y similar al reportado por varios estudios JIMÉNEZ, *et al* (1,469 aproximadamente), ROBAYO, Angie (1,4690 – 1,4695) y ACOSTA, Martha³³⁶ (1,47) realizados al aceite de aguacate según las metodologías establecidas en los documentos. Siendo esta determinación física utilizada como criterio para verificar la identidad, calidad y pureza del aceite, además de ser útil en el control de los procesos de hidrogenación de los aceites insaturados³³⁷.

3.2.7.3 Índice de saponificación. Para el aceite extraído por soxhlet, el índice promedio de saponificación es 152,4456 mg KOH/g (Tabla 14), siendo este valor menor al reglamentado por las normas CODEX, que establecen un rango entre 184-196 mg KOH/g. Esto indica que los ácidos grasos presentes en la muestra de aceite tienen un alto peso molecular, debido al menor número de moléculas de KOH necesarias para reaccionar con los ácidos grasos producidos por la ruptura de los enlaces éster de los triglicéridos. Esto se debe al hecho de que durante el proceso se alcanzaron altas temperaturas que favorecieron la extracción de triglicéridos de mayor peso molecular³³⁸. Estos resultados son similares a los encontrados por los autores Acosta, Martha, *et al* y González, M. *et al*, los cuales reportan índices de saponificación de 147-156 mg KOH/ g y 148,89 mg KOH/g respectivamente, como consecuencia del pretratamiento enzimático para extraer aceite de aguacate. El índice de saponificación no es una medida de identidad o calidad del aceite obtenido, pero sí de los ácidos grasos libres y combinados presentes en el mismo. Cuando se obtienen niveles bajos de saponificación, como en el caso del presente estudio, es porque en la muestra analizada existe un nivel bajo de oxidación³³⁹.

3.2.7.4 Índice de yodo. Establece una medida del grado de insaturación del aceite, que se relaciona con el punto de fusión del mismo, de acuerdo con los resultados obtenidos en la (Tabla 14) el valor promedio alcanzado por el aceite extraído a partir de la semilla de aguacate (*Persea americana* Mill. Var Hass) es de 94,3905 cg l/g, y se encuentra por encima del rango establecido de 75-94 cg l/g en las normas CODEX para aceites en la industria de alimentos. Por tanto, cuanto mayor sea la cantidad de insaturación presente la muestra, más sensibles serán a la oxidación y el punto de fusión del aceite será menor. Además, según el índice de yodo, el aceite se puede clasificar como secante con valores entre 140 y 210 cg l/g, semisecantes entre 100 y 140 cg l/g y no secantes por debajo de 100 cg l/g donde se categoriza

³³⁶ ACOSTA. Op. Cit., p. 23

³³⁷ RINCÓN. Op. cit. p. 16.

³³⁸ LAFONT, Jennifer; PÁEZ, Manuel y PORTACIO, Alfonso. Extracción y Caracterización Físicoquímica del Aceite de la Semilla (Almendra) del Marañón (*Anacardium occidentale* L) [en línea]. *En: Información Tecnológica*. 2011, vol. 22, no. 1, p. 54. [Consultado: 15 Julio 2019]. ISSN: 0718-0764. Disponible en: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0718-07642011000100007&lng=es&nrm=iso

³³⁹ ACOSTA. Op. Cit., p. 23

la muestra³⁴⁰. El aceite puede tener diferentes usos en la industria de acuerdo con esta clasificación, en el rango de no secantes se ha utilizado para el desarrollo de cremas y jabones líquidos³⁴¹.

Pese a lo mencionado según el índice de saponificación (al momento de realizar el ensayo), la muestra de aceite posee bajo nivel de oxidación, pero esto no significa que en periodos prolongados de tiempo no sea sensible a presentar reacciones oxidativas, por lo que la estabilidad a largo plazo de la sustancia oleosa, se deteriora fácilmente. Factores como éstos, son esenciales en etapas de almacenamiento³⁴². Autores como KITTIPHOO, S. y SUTASINEE, S, mencionan que aquellas diferencias en los valores de yodo para muestras de aceite, pueden ser resultado de las diferentes composiciones de ácidos grasos³⁴³.

3.2.7.5 Índice de peróxidos. El valor promedio del índice de peróxido para el aceite de semilla de aguacate (*Persea americana* Mill. var Hass) es de 17,3771 meq/Kg Tabla 14, que está por encima del límite máximo permitido de 15 meq/Kg establecido por las normas CODEX ALIMENTARIUS para los aceites vírgenes. Esto indica que el aceite sufrió degradación oxidativa antes de llevarse a cabo el análisis debido a que la muestra presenta una baja resistencia a la oxidación. Sin embargo, el valor del peróxido puede atribuir a muchos factores como las prácticas agrícolas, las enzimas liberadas por las células de la fruta durante el proceso y la variedad.

KITTIPHOO, S. y SUTASINEE, S, realizaron la extracción de aceite de semilla de mango, utilizando soxhlet y como disolventes: éter de petróleo, etanol y hexano. Los resultados determinados por los autores, mencionan que los aceites extraídos con éter de petróleo y hexano podrían almacenarse con menos deterioro que el aceite obtenido con etanol. Pese a que no se evalúa en el actual proyecto, el valor de índice de peróxidos obtenido con diversos solventes, según los resultados obtenidos en éste literal, el aceite de semilla de aguacate (variedad Hass) obtenido con etanol, posee un elevado valor de peróxido por lo que se vuelve rancio fácilmente y se le confiere poca estabilidad³⁴⁴; este comportamiento coincide con el reportado para el aceite de semilla de mango, extraído con etanol.

³⁴⁰ RODRIGUEZ, Jessica. Implementación de análisis cuantitativo de índice de yodo para aceite de palma, aceite de pescado y sebo, en la compañía industrial de productos agropecuarios (CIPA S.A) [en línea]. Trabajo de grado Tecnólogo Químico. Universidad Tecnológica de Pereira, 2013. p. 30. [Consultado: 15 Julio 2019]. Disponible en: <http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:R2KzyKT1q-AJ:repositorio.utp.edu.co/dspace/bitstream/handle/11059/3899/6643R696.pdf%3Fsequence%3D1%26isAllowed%3Dy+%cd=2&hl=es&ct=clnk&gl=co>

³⁴¹ LAFONT. Op. cit. p. 55

³⁴² UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE CATALUNYA. El aceite vegetal. En: UPC [Sitio web]. Barcelona: Estudio de la viscosidad y densidad de diferentes aceites para su uso como biocombustible. Archivo pdf. [Consultado: 16 mayo 2019]. Disponible en: <https://upcommons.upc.edu/bitstream/handle/2099.1/9403/3.4.%20EI%20aceite%20vegetal.pdf?sequence=6&isAllowed=y>

³⁴³ KITTIPHOO. Op. Cit., p. 1147

³⁴⁴ Ibid., p. 1146

Los autores mencionados también afirman que el solvente utilizado para la extracción influye significativamente en las propiedades fisicoquímicas del aceite.

3.2.7.6 Índice de acidez. Según el promedio de los datos recolectados (Tabla 14), el índice de acidez obtenido del aceite de la semilla de aguacate (*Persea americana* Mill. var Hass) es de 4.2797 mg KOH/g que, comparado con el valor máximo de acidez de 4 mg KOH/g establecido por CODEX ALIMENTARIUS es mucho más alto. Este resultado, se encuentra posiblemente asociado con la humedad en el aceite, ya que produce una reacción de hidrólisis de los triglicéridos que forman ácidos grasos libres³⁴⁵. También puede deberse al hecho de que en el proceso de extracción con solventes, se favorece la degradación de las cadenas de triglicéridos debido al calor, lo que da lugar a una mayor cantidad de ácidos grasos libres que son responsables de la oxidación de lípidos en el aceite y, por lo tanto, contribuyen a la rancidez del mismo. Lo que indica que el aceite es fácilmente oxidable, rico en polifenoles y antocianinas³⁴⁶.

3.2.7.7 Determinación de materia insaponificable. Debido a la búsqueda bibliográfica realizada y a la dificultad de determinar cuantitativamente los esteroides en el extracto etanólico y aceite obtenido dada su baja concentración, se decidió, concentrar la fracción de fitoesteroides mediante la obtención de la fracción insaponificable, sin embargo, la falta de equipos cromatográficos disponibles para la cuantificación de éstos compuestos, así como patrones y columna, impidieron la realización del proceso cuantitativo a partir de la materia insaponificable separada, por lo que se dispuso a realizar la determinación colorimétrica de fitoesteroides en la muestra mencionada y a evaluar el contenido de materia insaponificable.

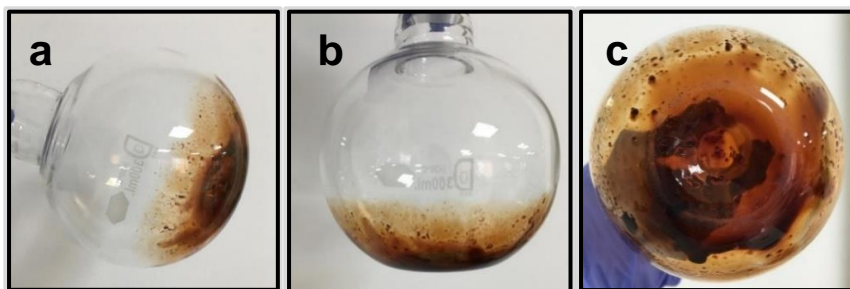
Como se muestra en la tabla 14, la materia insaponificable a partir del aceite de aguacate (*Persea americana* Mill. var Hass), presenta un contenido promedio de 86.8665 g/kg, valor que se encuentra dentro del límite establecido (≤ 120 g/kg) por las normas CODEX.

La materia (no saponificable) obtenida, presentó una coloración café clara y aspecto semisólido a temperatura ambiente, su olor se puede relacionar al del aceite obtenido de las semillas *Persea americana* Mill, variedad Hass.

³⁴⁵ Ibid., p. 55

³⁴⁶ TORO. Op. cit. p. 92.

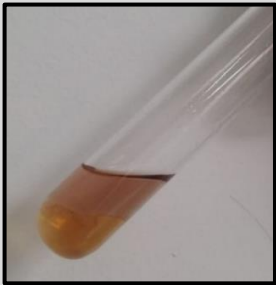

Imagen 42. a; b y c. Materia insaponificable del aceite de semillas de aguacate (*Persea americana* Mill. var Hass).



Fuente: elaboración propia.

3.2.8 Prueba de Liebermann-Burchard. La prueba colorimétrica de Liebermann-Burchard para la determinación cualitativa de fitoesteroles, se aplicó en tres muestras (extracto etanólico, aceite y materia insaponificable) con el fin de verificar la presencia de los compuestos bioactivos y por lo tanto la viabilidad de los procesos desarrollados. Los resultados se presentan a continuación:

Cuadro 13. Pruebas químicas preliminares.

Muestra	Compuesto que detecta	Resultado	Imagen
Extracto etanólico	Esteroides, esteroides y triterpenoides	+	
Aceite concentrado		+	

Cuadro 14. (Continuación)

Muestra	Compuesto que detecta	Resultado	Imagen
Materia insaponificable sin concentrar	Esteroides, esteroles y triterpenoides	+	
Materia insaponificable		+	

Fuente: elaboración propia.

Las pruebas fitoquímicas realizadas fueron positivas, ya que se forma un anillo color violeta debido a la reacción que se produce cuando el ciclopentanoperhidrofenantreno entra en contacto con el reactivo de Liebermann-Burchard³⁴⁷. En la muestra de aceite concentrado y materia saponificable se observa la formación de color azul que cambia con el tiempo, lo que indica la presencia de un núcleo esteroide, y en la muestra de extracto etanólico una coloración rojo-naranja pardo que indica la presencia de un núcleo triterpenico³⁴⁸.

3.3 SEPARACIÓN Y DETERMINACIÓN DE FITOESTEROLES

De acuerdo a la revisión bibliográfica realizada, la separación de fitoesteroles involucra un procedimiento de saponificación, una extracción líquido-líquido para la concentración de la materia insaponificable y finalmente una separación cromatografía para la determinación y cuantificación de los compuestos bioactivos. La selección de las condiciones para la realización de las dos primeras actividades

³⁴⁷ MORALES, Raquel y ROMERO, Mauricio. Estudio fitoquímico preliminar del fruto de la especie vegetal cyphomandra betacea (Tomate de palo) e identificación de alcaloides esteroidales [en línea]. Trabajo de grado: Licenciatura en Química y Farmacia. Universidad de el Salvador, 2009. p. 82. [Consultado: 08 marzo 2019]. Disponible en: <http://ri.ues.edu.sv/id/eprint/2821/>

³⁴⁸ FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES. Trabajo Practico N° 5. Glicósidos. En: Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco. [sitio web]. Argentina: Glicósidos I. Reacciones Generales de Glicósidos. [Consultado: 08 marzo 2019]. Archivo pdf. Disponible en: http://www.fcn.unp.edu.ar/sitio/farmacognosia/wp-content/uploads/2009/04/tp5_glicosidos_2009.pdf

se realizó en base a la NTC 235-2, norma trabajada por los autores de los documentos No.40, 44 y 45.

La selección de las condiciones utilizadas en la CG-MS, se realizó con base en los parámetros reportados en el cuadro 11, a continuación, se presentan los rangos establecidos para cada criterio cromatográfico y los respectivos autores:

Cuadro 15. Criterios cromatográficos utilizados para la selección de parámetros.

Cromatógrafo de gases		Criterio	No. de artículo de referencia
FASE MÓVIL	GAS TRANSPORTADOR	Helio	40, 44, 48, 49 y 51
	FLUJO TOTAL	0.7 - 1 mL/min	44, 48
INYECTOR	TEMPERATURA	150°C y 350°C	40, 44, 49, 51 y 52
	VOLUMEN	1.0 µL	40, 44, 48, 49
	MODO	Split	40, 44, 48, 49, 51 y 52
PROGRAMACIÓN DEL HORNO	TEMPERATURA	120°C a 320°C	. 40, 44, 49, 52
	RATA	8 -25 °C/min	40, 44, 48, 49, 50, 51

Fuente: elaboración propia

Debido a que la separación y cuantificación de fitoesteroles, fue realizada por la Universidad Tecnológica de Pereira, los criterios establecidos previamente en el cuadro 15. no se replicaron, sin embargo, los parámetros reportados son similares con los utilizados en este estudio.

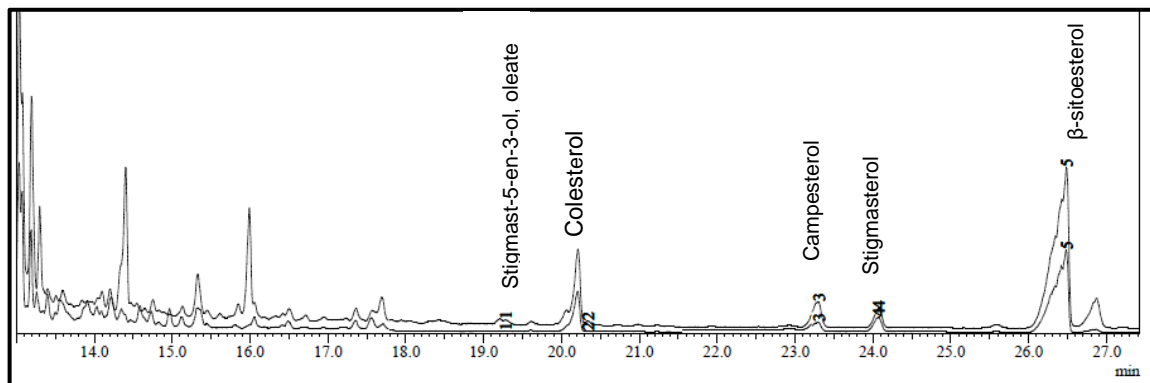
Cuadro 16. Parámetros utilizados para la separación y cuantificación de fitoesteroles por GC-MS.

Cromatógrafo de gases	Shimadzu	GCMS-QP2020
Fase móvil	Gas transportador	Helio
	Flujo total	0.9 mL/min
Inyector	Temperatura	280 °C
	Volumen	2 µL
	Modo	Split
Programación del horno	Temperatura 1	150 °C
	Tiempo de calentamiento 1	3 min
	Rata 1	20 °C/min
	Temperatura 2	275 °C
	Tiempo de calentamiento 2	20 min
	Rata 2	10 °C/min
	Temperatura 3	310 °C
	Tiempo de calentamiento 3	10 min

Fuente: Universidad Tecnológica de Pereira.

De acuerdo con el análisis de CG-MS realizado por la Universidad Tecnológica de Pereira, se obtuvieron los siguientes resultados:

Imagen 43. Cromatograma del análisis composicional por CG-MS de la fracción de fitoesteroles presentes en el aceite de semillas de aguacate *Persea americana* Mill. var Hass.



Fuente: Universidad Tecnológica de Pereira.

En la imagen 44 se puede observar el cromatograma que pertenece a la materia insaponificable del aceite de la semilla *Persea americana* Mill. Var. Hass, en donde se muestra la comparación de los tiempos de retención de los estándares utilizados con los analitos existentes en la muestra, y se identifican 5 picos principales que corresponden a los siguientes fitoesteroles: Stigmast-5-en-3-ol, oleate; Colesterol; Campesterol; Stigmasterol y β -sitosterol. En la tabla 15, se registran los porcentajes de área y los tiempos de retención de los compuestos mencionados:

Tabla 16. Tiempos de retención y área de cada uno de los estándares de fitoesteroles.

Pico	Compuesto	Tiempo de retención (min)	Área	% Área	Cuantificación mg/kg de aceite	Rendimiento mg/g de aceite
1	Stigmast-5-en-3-ol, oleate	19.283	1158184	2.16	-	-
2	Colesterol	20.341	1151953	2.15	-	-
3	Campesterol	23.300	1069295	19.92	-	-
4	Stigmasterol	24.072	6802861	12.67	7.3	0.0265
5	β -sitosterol	26.486	3386592	63.10	158.87	0.5777

Fuente: Universidad Tecnológica de Pereira.

De los fitoesteroles identificados, el Campesterol y el β -sitosterol corresponden a los compuestos mayoritarios presentes en la muestra, con porcentajes de área de 19.92% y 63.10% respectivamente.

De los cinco fitoesteroles determinados, solo se cuantificaron dos que corresponden al Estigmasterol con 7.3 mg/kg de aceite y β -sitoesterol con 158.87 mg/kg de aceite (tabla No. 16). Estos valores permitieron determinar el rendimiento de la separación de los fitoesteroles mencionados, con base en el promedio del aceite extraído con el mayor rendimiento, obteniendo 0.5777 mg de β -sitoesterol/ g de aceite y 0.0265 mg de Estigmasterol/ g de aceite. No fue posible determinar en rendimiento en base a la cantidad de fitoesteroles totales en la muestra de estudio, debido a la falta de estándares disponibles. La cantidad de β -sitoesterol presenta un contenido significativo como se esperaba, ya que corresponde a uno de los compuestos más abundantes en las fuentes vegetales.

Tabla 17. Resultados de la cuantificación de fitoesteroles.

Ensayo	Estigmasterol (mg/kg)	β -sitoesterol (mg/kg)
1	7.54	164.15
2	7.06	153.59
Promedio	7.3	158.87
SD	0.34	7.47
CV	0.004	0.047

Fuente: Universidad Tecnológica de Pereira.

Las cantidades de cada fitoesterol, se compararon con los determinados por AGUIRRE, Marta, que informa una concentración y composición porcentual de fitoesteroles en el aceite de semilla de girasol convencional (HA-89) de 6,87 mg/kg de aceite para el Estigmasterol y 68.57 mg/kg de aceite para el β -sitoesterol, lo que indica que los fitoesteroles se encuentran en mayor proporción en la muestra de estudio del proyecto actual.

Otros autores como TALAVERANO, Alagón; reportan para las unidades de estudio (Semillas de Sacha Inchi), una concentración promedio de 682.3 mg/kg de aceite para Estigmasterol y 1374.3 mg/kg de aceite para el β -Sitosterol, mientras que BARRERA, Rosa y ARRUBLA, Juan informan que para el aceite extraído de la semilla de aguacate variedad Lorena, la concentración del Estigmasterol fue de 19.17 mg/kg de aceite, siendo estos resultados mayores a los encontrados para el aceite de semilla de aguacate variedad Hass. ARIAS, Andrés y GIL, Diana, también reflejan este comportamiento, al obtener concentraciones de 211,19 mg/kg de aceite para el Estigmasterol y 2551.1 mg/kg de aceite para el β -Sitosterol, en el aceite extraído de semillas de *Luffa Cylindrica*.

En cuanto a los anteriores datos experimentales de las semillas comparadas, se considera que el aumento en la concentración de los fitoesteroles, se debe posiblemente a la diferencia de las especies y variedades trabajadas, las condiciones agroclimatológicas de cultivo y la polaridad del disolvente utilizado en la extracción.

4. CONCLUSIONES

- A partir de la información suministrada por entidades nacionales, el aumento de los cultivos y de áreas destinadas para tal actividad, permite establecer a Colombia como un país productor y comercializador de aguacate variedad Hass, lo que ha permitido el incremento de la producción del fruto y una elevada generación de subproductos agroindustriales como semillas, que poseen alto valor nutritivo y contenido de sustancias bioactivas que pueden ser foco de investigación, situación que revela el uso potencial de este material.
- A pesar de la exhaustiva selección de parámetros realizadas para los métodos de extracción asistida por microondas y ultrasonido, los resultados correspondientes a la extracción de aceite de semilla de aguacate variedad Hass, fueron poco reproducibles con cantidades casi nulas de sustancia oleosa; situación que muestra que las condiciones establecidas pueden funcionar adecuadamente para una muestra, y mostrar resultados deficientes para otras.
- El método soxhlet fue la técnica de extracción que mostró el mayor rendimiento de aceite usando etanol como solvente, alcanzando rendimientos de hasta 14,55% con la malla No. 40 correspondiente a una abertura de 0.420 mm. Se evidenciaron diferencias significativas, cuando el proceso de extracción se llevó a cabo utilizando diferentes tamaños del material molido.
- La caracterización del aceite obtenido mostro inestabilidad, debido a la presencia de insaturaciones presentes en la muestra, lo que dificultó el análisis cromatográfico dado que el aceite altos grados de oxidación y bajo punto de fusión.
- Los rendimientos a partir del aceite fueron de 0.0265 mg/ g de aceite para el Estigmasterol y 0.5777 mg /g de aceite para el β -sitoesterol, siendo este último, el fitoesterol que se encuentra en mayor cantidad en la sustancia oleosa extraída.

5. RECOMENDACIONES

- De acuerdo a los resultados obtenidos en el actual proyecto, respecto a la obtención de aceite mediante las técnicas trabajadas (extracción asistida por microondas y ultrasonido), se recomienda realizar los procesos extractivos, utilizando mezclas de solventes polares con agua, con el fin de evaluar el rendimiento de extracción de aceite. Si es posible, realizar un diseño de experimentos utilizando esta nueva condición.
- En contraste a lo mencionado, se recomienda evaluar las metodologías de microondas y ultrasonido como técnicas de pretratamiento (antes de la extracción de aceite por soxhlet), con el fin de verificar su efecto en variables como el tiempo requerido para la obtención de aceite, las propiedades del mismo, el rendimiento y la eficiencia de extracción.
- La materia prima utilizada en este proyecto, fue recogida en fechas definidas, sin embargo, se sugiere realizar un muestreo previo a la recolección de la materia prima de forma que, 1) se garantice que la muestra sea aleatoria y 2) se estudie la generación de los residuos de semillas de aguacate variedad Hass, en el mercado local de la plaza de Corabastos (Bogotá, Colombia).
- Evaluar la cantidad de compuestos presentes en el aceite extraído, tales como ceras o resinas, ya que estos sólidos solubles, afectan significativamente propiedades físicas como la densidad. Si es posible, estudiar la generación de estas sustancias utilizando otro tipo de solvente.
- A raíz de la poca información encontrada sobre la semilla de aguacate *Persea americana* Mill, variedad Hass, se recomienda realizar un estudio más profundo a cerca de las propiedades físicas, químicas y mecánicas de este material sólido, de modo que se profundice en la caracterización global de esta materia prima y posiblemente, se descubra nuevas aplicaciones en las que pueda utilizarse las semillas de aguacate variedad Hass.
- Debido a la inestabilidad oxidativa que presenta el aceite obtenido en este estudio, se aconseja evaluar la posibilidad de realizar un proceso de escaldado (previo a la extracción), con el fin de retardar el fenómeno de enranciamiento en la sustancia oleosa, y por consiguiente, la reducción de la actividad de las enzimas oxidasas.
- Realizar un análisis composicional de la torta resultante luego de la extracción de aceite de semillas de aguacate variedad Hass, de modo que se estudie una posible aplicación para este subproducto y por lo tanto, se promueva un aprovechamiento integral del fruto.

- Debido a la utilización de residuos agroindustriales, se recomienda estudiar a profundidad, las condiciones adecuadas para la conservación de esta materia prima durante su almacenamiento, y por consiguiente, las repercusiones que tiene el acopiamiento y el estado de las semillas sobre: 1) el rendimiento obtenido a partir de procesos extractivos y 2) la composición de fitoesteroles presentes en los aceites obtenidos.

BIBLIOGRAFÍA

ABARCA, Gema de los Ángeles, *et al.* Reducción mecánica de tamaño y tamizado de los sólidos. En: Academia [sitio web]. Nicaragua: Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua. [Consultado: 28 agosto 2019]. Disponible en: https://www.academia.edu/33615269/Reduccion_de_tama%C3%B1o_y_tamizado

ABBAS, M, *et al.* Oxidation stability and compositional characteristics of oils from microwave roasted pumpkin seeds during thermal oxidation [en línea]. En: International Journal of Food Properties. Marzo, 2017, vol. 20, no. 11, p. 2569-2580. [Consultado: 04 marzo 2019]. Disponible en: <https://doi.org/1080/10942912.2016.1244544>

ACOSTA, Jhoany, *et al.* Empleo del ultrasonido para la extracción de fracción apolar en hojas de Mangifera indica L. (árbol del mango) [en línea]. En: Revista Cubana de Plantas Medicinales. Julio – Septiembre, 2016, vol 21, no. 3, p. 270. ISSN: 1028-4796. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962016000300002

ACOSTA, Martha. Evaluación y escalamiento del proceso de extracción de aceite de aguacate utilizando tratamiento enzimático [en línea]. Tesis: Magister en Ingeniería Química. Universidad Nacional de Colombia, 2011. p. 107. [Consultado: 13 de septiembre de 2018]. Disponible en: <http://bdigital.unal.edu.co/4070/1/marthaceciliaacostamoreno.2011.pdf>

AGUILERA, José. The food matrix: implications in processing, nutrition and health [en línea]. En: Journal Critical Reviews in Food Science and Nutrition. Septiembre, 2018, p. 1-2. [Consultado: 25 agosto 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30040431>

AGUIRRE, Marta. Evaluación de fitoesteroles en aceites de semillas de girasol modificadas genéticamente [en línea]. Tesis Doctoral. Universidad de Sevilla, 2012. p. 172. [Consultado: 14 octubre 2018]. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=57800>

ALTUNTAS, E.; OZGOZ, E. y FARUK, O. Some physical properties of fenugreek (*Trigonella foenum-graceum* L.) seeds [en línea]. En: Journal of Food Engineering, Noviembre, 2005, vol. 71, p. 37-43. [Consultado: 26 Mayo 2019]. ISSN: 0260-8774. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2004.10.015

AMIDON, G.; MEYER, P. y MUDIE D. Particle, powder and compact characterization [en línea]. En: Qiu, Y. *et al.* Developing Solid Oral Dosage Forms. 2 ed. Nueva York: Editorial Elsevier, 2017. p. 271-293 [Consultado: 09 mayo 2019]. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802447-8.00010-8>

AMÓRTEGUI, Ignacio; CAPERA, Edgar y GODOY, José. El Cultivo de Aguacate. Módulo Educativo para el Desarrollo Tecnológico de la Comunidad Rural. En: PROHACIENDO. [sitio web]. Tolima. [Consultado: 20 abril 2019]. Archivo pdf. Disponible en: <http://bibliotecadigital.agronet.gov.co/bitstream/11348/49111/1/EI%20cultivo%20del%20aguacate.pdf>

ARAÚJO, Larissa, *et al.* Total phytosterol content in drug materials and extracts from roots of *Acanthospermum hispidum* by UV-VIS spectrophotometry [en línea]. En: Brazilian Journal of pharmacognosy. Septiembre- Octubre de 2013, vol. 23, p. 736-742. [Consultado: 17 abril 2019]. Disponible en: <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2013000500004>

ARIAS, Andrés y Gil, Diana. Estandarización de la técnica cromatografía de gases capilar para la identificación y cuantificación de fitoesteroles en semillas de *Luffa Cylindrica* [en línea]. Trabajo de grado Químico Industrial. Universidad Tecnológica de Pereira, 2012, p. 80. [Consultado: 30 septiembre 2018]. Disponible en: <http://recursosbiblioteca.utp.edu.co/tesis/textoanexos/66028423A696.pdf>

ARLENE, Ariestya, *et al.* The Preliminary Study of The Dye Extraction from The Avocado Seed Using Ultrasonic Assisted Extraction [en línea]. En: Procedia Chemistry. Diciembre, 2015, vol. 16. p. 334-340. [Consultado: 9 marzo 2019]. ISSN: 1876-6196. DOI: 10.1016/j.proche.2015.12.061

ASHWORTH, Vanessa; CHEN, Haofeng y CLEGG, Michael. *Persea* [en línea]. En: KOLE, Chittaranjan. Wild Crop Relatives: Genomic and Breeding Resources. Tropical and subtropical fruits. Alemania: Springer, 2011. p. 173-189. [Consultado: 13 abril 2019]. ISBN 978-3-642-20446-3. DOI 10.1007/978-3-642-20447-0.

AUGUSTIN, Mary and CLARKE, Phillip. Dry Milk Products [en línea]. En: CHANDAN, Ramesh y KILARA, Arun. Dairy Ingredients for Food Processing. Oxford (UK): Wiley-Blackwell, 2009. p. 148-149. [Consultado: 08 de mayo 2019]. Disponible en:

https://books.google.com.co/books?id=XNWBDwAAQBAJ&pg=PA141&lpg=PA141&dq=AUGUSTIN,+Mary+and+CLARKE,+Phillip.+Dry+Milk+Products&source=bl&ots=YxeMX2mehr&sig=ACfU3U0q1Du_kF94bVDRH2YAKDzNZAJMHg&hl=es&sa=X&ved=2ahUKEwi8h1b1mc_jAhWLxVvKHSSODsEQ6AEwDXoECAgQAQ#v=onepage&q=AUGUSTIN%2C%20Mary%20and%20CLARKE%2C%20Phillip.%20Dry%20Milk%20Products&f=false

AUGUSTIN, M.; CLARKE, P. y CRAVEN, H. Powdered Milk | Characteristics of Milk Powders [en línea]. En: TRUGO, Luiz y FINGLAS, Paul M. Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition. 2 ed. Editorial Academic Press, 2003. p. 4703-4711. [Consultado: 03 Junio 2019]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B012227055X009561>

AVHAD, M. R. y MARCHETTI, J. M. Temperature and pretreatment effects on the drying of Hass avocado seeds [en línea]. En: Biomass and Bioenergy. Diciembre, 2015, vol. 83, p. 467-473. [Consultado: 04 febrero 2019]. ISSN: 0961-9534. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2015.10.028>

AYALA, Tomas y LEDESMA, Noris. Avocado History, Biodiversity and Production [en línea]. En: NANDWANI, Dilip. Sustainable Horticultural Systems. Alemania: Springer, 2014, p.157-205. [Consultado: 18 abril 2019]. Disponible en: https://doi.org/10.1007/978-3-319-06904-3_8. ISBN 978-3-319-06904-3.

AZADMARD, Sodeif, *et al.* Effect of pretreatment with microwaves on oxidative stability and nutraceuticals content of oil from rapeseed [en línea]. En: Food Chemistry. Agosto, 2010, vol. 121, no. 4, p. 1211-1215. [Consultado: 04 marzo 2019]. DOI: 10.1016/j.foodchem.2010.02.006.

AZUOLA, Rocío y VARGAS, Pedro. Extracción de sustancias asistida por ultrasonido (EUA) [en línea]. En: Tecnología en Marcha. Noviembre, 2007, vol. 20, no.4, p. 35 [Consultado: 04 febrero 2019]. Disponible en: https://revistas.tec.ac.cr/index.php/tec_marcha/article/view/449

BAILEY, Alton. Extracción de grasas y aceites [en línea]. España: Reverté, S. A, 2001. Aceites y grasas industriales. p. 422-473. [Consultado: 15 mayo 2019]. Disponible en: https://books.google.com.co/books?id=xFjGDCmLuKQC&pg=PA422&lpg=PA422&dq=BAILEY,+Alton.+Extracci%C3%B3n+de+grasas+y+aceites&source=bl&ots=HzKFIS1YQ3&sig=ACfU3U3VvkQ0w_RgU9bfaRi6n-awii1N_9A&hl=es&sa=X&ved=2ahUKEwiEjMi74b7jAhXwp1kKHWm3DXgQ6AEwA3oECAkQAQ#v=onepage&q=BAILEY%2C%20Alton.%20Extracci%C3%B3n%20de%20grasas%20y%20aceites&f=false. ISBN. 84-291-7901-1

BARBOSA, Enrique, *et al.* Chemical and technological properties of avocado (*Persea americana* Mill.) seed fibrous residues [en línea]. En: Food and Bioproducts Processing. Septiembre, 2016, vol. 100, p. 457-463. [Consultado: 30 enero 2019]. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2016.09.006>

BARRERA, Rosa y ARRUBLA Juan. Análisis de fitoesteroles en la semilla de *Persea americana* Miller (Var. Lorena) por cromatografía de gases y cromatografía líquida de alta eficiencia [en línea]. En: Revista facultad de ciencias básicas. Febrero, 2017, vol.; 13, no. 1. p. 35-40. [Consultado: 18 marzo 2019]. ISSN: 1900-4699 DOI: 10.18359/rfcb.2013. Disponible en: <https://revistas.unimilitar.edu.co/index.php/rfcb>

BAÜMLER, Erica; CARRÍN, María y CARELLI, Amalia. Extraction of sunflower oil using ethanol as solvent. [en línea]. En: Journal of Food Engineering. Enero, 2016,

vol. 178, p. 190-197. [Consultado: 25 febrero 2019]. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodeng.2016.01.020>.

BERASATEGI, Izaskun; BARRIUSO, Blanca y ANSORENA, Diana. Stability of avocado oil during heating: Comparative study to olive oil [en línea]. En: Food Chemistry. Mayo, 2012, vol. 132, no. 1, p. 439-446. [Consultado: 04 febrero 2019]. ISSN. 0308-8146. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.11.018>

BERK, Zeki. Physical Properties of Food Materials [en línea]. En: Food Process Engineering and Technology. 2 ed. Israel: Editorial Academic Press - Elsevier, 2018. p. 1-29. [Consultado: 22 mayo 2019]. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812018-7.00001-4>

BUELVAS, G; PATIÑO, J. y CANO, J. Evaluación del proceso de extracción de aceite de aguacate Hass (*Persea americana Mill*) utilizando tratamiento enzimático [en línea]. En: Revista Lasallista de investigación. Noviembre, 2012, vol. 9, no. 2, p. 138-150. [Consultado: 13 septiembre 2018]. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rlsi/v9n2/v9n2a15.pdf>.

BUSTAMANTE, Julen, *et al.* Microwave assisted hydro-distillation of essential oils from wet citrus peel waste. [en línea]. En: Journal of Cleaner Production. Noviembre, 2016, vol. 137, p. 598-605. [Consultado: 09 febrero 2019]. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jclepro.2016.07.108>.

CABRERA, Edgar. En: Mississippi State University. [sitio web]. Mississippi: Importancia de la humedad en la vida de las semillas. [Consultado: 15 de mayo de 2019]. Archivo PDF. Disponible en: <https://ir.library.msstate.edu/bitstream/handle/11668/13219/K-40.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

CARO, Axel. Breves normas de control de calidad en granos almacenados. En: Coin FAO [sitio web]. Quito: Poscosecha y Mercadeo MAG-FAO. [Consultado: 08 de Mayo de 2019]. Archivo PDF. Disponible en: <https://coin.fao.org/coin-static/cms/media/20/13950919933370/c11.pdf>

CAMPO, Yesenia; GELVEZ, Victor y AYALA, Alfredo. Ultrasonido en el procesamiento (homogenización, extracción y secado) de alimentos [en línea]. En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial. Enero – Junio, 2018, vol. 16, no. 1. p. 102 – 113. [Consultado: 13 marzo 2019]. ISSN: 1909-9959. DOI: 10.18684/bsaa.v16n1.628

CARDOSO, Ricardo; DAVANTEL, Sueli y GIMENES, Marcelino. The extraction of passion fruit oil with green solvents [en línea]. En: Journal of Food Engineering. Agosto, 2013, vol. 117, no. 4. p. 458-463. [Consultado: 14 marzo 2019]. ISSN: 0260-8774. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2012.12.004

CASTEJÓN, Natalia; LUNA, Pilar y SEÑORÁNS, Francisco J. Alternative oil extraction methods from *Echium plantagineum* L. seeds using advanced techniques and green solvents [en línea]. En: Food Chemistry. Abril, 2018, vol. 244, p. 75-82. [Consultado: 27

Febrero 2019]. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.10.014>

CEBALLOS, Adela y MONTOYA, Sandra. Evaluación química de la fibra en semillas, pulpa y cáscara de tres variedades de aguacate [en línea]. En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial. Enero-Junio 2013, vol. 11, no. 1, p. 103. [Consultado: 04 febrero 2019]. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/bsaa/v11n1/v11n1a13.pdf>

CITMA, IGT e INFOGED. Germinación de nuestras semillas: factor de éxito en la restauración ecológica. En: Repositorio Geotech - Experiencias Proyecto Sabana Camagüey paisajes productivos cap 10 [sitio web]. Cuba: Geotech. [Consultado: 25 mayo 2019]. Archivo pdf. Disponible en: <http://repositorio.geotech.cu/jspui/handle/1234/659>

CHANDRASEKARAN, S; RAMANATHAN, S. y BASAK, Tanmay. Microwave food processing- A review [en línea]. En: Food Research International. Marzo, 2013, vol. 52, p. 243-261. [Consultado: 30 enero 2019]. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.02.033>

CHAPARRO, María. Aguacate (*Persea americana* Mill). En: CENICAFÉ. [sitio web]. Colombia. [Consultado: 24 febrero 2019]. Archivo pdf. Disponible en: <http://biblioteca.cenicafe.org/bitstream/10778/828/19/Aguacate.pdf>

CHEMAT, Farid; VIAN, Maryline y CRAVOTTO, Giancarlo. Green Extraction of Natural Products: Concept and Principles [en línea]. En: International Journal of Molecular Sciences. 2012, vol. 13, no. 7. p. 8615-8627. [Consultado: 01 abril 2019]. ISSN: 1422-0067. DOI: 10.3390/ijms13078615

CHEN, Felgli, ZU, Yuangang y YANG, Lei. A novel approach for isolation of essential oil from fresh leaves of *Magnolia sieboldii* using microwave-assisted simultaneous distillation and extraction [en línea]. En: Separation and Purification Technology. Septiembre, 2015, vol. 154, p. 271-280. [Consultado: 09 febrero 2019]. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.seppur.2015.09.066>.

CLARK, J.P. Plant Design: Process Control and Automation [en línea]. En: CABALLERO, Benjamin. Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition. 2 nd. Academic Press, 2003. p. 6000. [Consultado: 16 mayo 2019]. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/B0-12-227055-X/00014-6>. ISBN. 978-0-12-227055-0.

CONGRESO INTERNACIONAL AmITC 2017. En: (4:6-8, septiembre, 2017: Popayán, Colombia). Estado actual de los desperdicios de frutas y verduras en

Colombia. Popayán: Universidad Tecnológica de Pereira, 2017. p. 194-208. [Consultado: 04 febrero 2019]. Archivo pdf. Disponible en: revistas.utp.ac.pa/index.php/memoutp/article/download/1493/2174

DA COSTA, Paulo, *et al.* Phytosterols and tocopherols content of pulps and nuts of Brazilian fruits [en línea]. En: Food Research International. Julio, 2010, vol. 43, p. 1603-1606. [Consultado: 04 febrero 2019]. ISSN: 0963-9969. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.04.025>

DANE. [sitio web]. El cultivo del aguacate (*Persea americana* Miller.), fruta de extraordinarias propiedades alimenticias, curativas e industriales (Primera parte). [Consultado: 21 abril 2019]. Disponible en: https://www.dane.gov.co/files/investigaciones/agropecuario/sipsa/Bol_Insumos_oct_2015.pdf

DE ADÁ, Jorgelina. En: Universidad Fasta. [sitio web]. Argentina: Galletitas de salvado con aceite de canola y fitoesteroles. [Consultado: 28 octubre 2018]. Archivo pdf. Disponible en: http://redi.ufasta.edu.ar:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/435/2010_N_063.pdf?sequence=1

DEPARTAMENTO NACIONAL DE PLANEACION. Colombianos botan 9.76 millones de toneladas de comida al año [en línea]. [Consultado: 26 agosto 2019]. Disponible en: <https://www.dnp.gov.co/Paginas/Colombianos-botan-9,76-millones-de-toneladas-de-comida-al-a%C3%B1o.aspx>

DEPARTAMENTO NACIONAL DE PLANEACIÓN. Pérdida y desperdicio de alimentos en Colombia. En: DNP [sitio web]. Colombia: Departamento nacional de planeación. [Consultado: 26 de Agosto de 2019]. Archivo pdf. Disponible en: https://mrv.dnp.gov.co/Documentos%20de%20Interes/Perdida_y_Desperdicio_de_Alimentos_en_colombia.pdf

DE LA SERNA, David. Nuevas tendencias en preparación de muestras. En: Agilent Technologies [sitio web]. Santa Clara: Agilent Technologies - Opciones de columna para HPLC y UHPLC. [Consulta 25 mayo 2019]. Disponible en: [https://www.agilent.com/cs/library/slidepresentation/public/1-Nuevas%20tendencias%20en%20Extraccion%20en%20Fase%20Solida%20\(SPE\)-8%20Marzo%20Almiral%20version%202.pdf](https://www.agilent.com/cs/library/slidepresentation/public/1-Nuevas%20tendencias%20en%20Extraccion%20en%20Fase%20Solida%20(SPE)-8%20Marzo%20Almiral%20version%202.pdf)

DORANTES, Lidia; PARADA, Lidia y ORTIZ, Alicia. AVOCADO: Post-harvest operations. En: FAO. [sitio web]. Roma (Italia). [Consultado: 17 abril 2019]. Archivo pdf. Disponible en: http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/inpho/docs/Post_Harvest_Compendum_-_Avocado.pdf

DORANTES, Lidia., *et al.* Microwave-Assisted Extraction of Phytochemicals and Other Bioactive Compounds. [en línea]. En: Reference module in food science. Xalapa (México): Elsevier, 2017.1 p.10. [Consultado 09 febrero 2019]. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.21437-6>

DORANTES, Lidia, *et al.* Microwave processing of avocado: Volatile flavor profiling and olfactometry [en línea]. En: Innovative Food Science and Emerging Technologies. Mayo, 2008, vol. 9, no. 4, p. 501-506. [Consultado: 30 enero 2019]. DOI: 10.1016/j.ifset.2008.05.003.

DORANTES, Lidia, GUZMÁN, Gerónimo y I. Rosa. Cambios en el perfil de ácidos grasos y microestructura de aguacate Hass tratado con microondas [en línea]. En: Archivos Latinoamericanos de nutrición. Septiembre, 2008, vol. 58, no. 3, p. 298-302. [Consultado: 17 febrero 2019]. Disponible en: http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222008000300013. ISSN: 0004-0622.

ĐURĐEVIĆ, Sanja, *et al.* Improvement of supercritical CO₂ and n-hexane extraction of wild growing pomegranate seed oil by microwave pretreatment [en línea]. En: Industrial Crops & Products. Octubre, 2017, vol. 104, p. 21-27. [Consultado: 09 febrero 2019]. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.04.024>.

DURSun, I., TUGRUL, K.M. y DURSUN, E. Some physical properties of sugarbeet seed [en línea]. En: Journal of Stored Products Research. 2007, vol. 43, no. 2. p. 150. [Consultado: 22 mayo 2019]. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2006.03.001>

DUQUE DE CASTRO, M.D y PRIEGO-CAPOTE, F. Soxhlet extraction: Past and present panacea [en línea]. En: Journal of Chromatography A. Abril, 2010, vol. 1217, p. 2383-2389. [Consultado: 04 febrero 2019]. DOI: 10.1016/j.chroma.2009.11.027.

ECURED. Raza [en línea]. [Consultado: 26 agosto 2019]. Disponible en: <https://www.ecured.cu/Raza>

ENNIS, Bryan, *et al.* Solid-Solid Operations and Processing [en línea]. En: GREEN, D. y PERRY, R. Perry's Chemical Engineers' Handbook. 8 ed. Nueva York: Editorial McGraw-Hill, 2008. p. 335. [Consultado: 30 mayo 2019]. Disponible en: <https://thunderbooks.wordpress.com/2009/05/27/manual-del-ingeniero-quimico-perrys-ingles/>

ESTRADA, Eliana; CORTÉS, Misael y CORREA, Guillermo. Stability of a colloidal system based on avocado (*Persea americana Mill.* cv. Hass) and others: Effect of process and composition. [en línea]. En: Acta Agronómica. Julio – Septiembre, 2017, vol. 66, no. 3, p. 338-346. [Consultado: 09 septiembre 2018]. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/acag/v66n3/0120-2812-acag-66-03-00338.pdf>.

FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS. Reacciones de identificación y propiedades de los lípidos - Cromatografía en capa fina. En: FCV [sitio web]. Venezuela: Reacciones de identificación y propiedades de los lípidos TLC. [Consultado: 23 marzo 2019]. Archivo PDF. Disponible en: http://www.fcv.luz.edu.ve/images/stories/catedras/bioquimica_i/identificacion_propiedades.pdf

FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES. Trabajo Practico N° 5. Glicósidos. En: Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco. [sitio web]. Argentina: Glicósidos I. Reacciones Generales de Glicósidos. [Consultado: 08 marzo 2019]. Archivo pdf. Disponible en: http://www.fcn.unp.edu.ar/sitio/farmacognosia/wp-content/uploads/2009/04/tp5_glicosidos_2009.pdf

FANG, Xinsheng *et al.* Simultaneous extraction, identification and quantification of phenolic compounds in *Eclipta prostrata* using microwave-assisted extraction combined with HPLC–DAD–ESI–MS/MS [en línea]. En: Food Chemistry. Diciembre, 2015, vol. 188, p. 527-536. [Consultado: 04 febrero 2019]. ISSN: 0308-8146. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.05.037>

FARMACOPEDIA DE LOS ESTADOS UNIDOS MEXICANOS. Densidad aparente y densidad compactada en polvos. En: Repositorio, documentos farmacopeia [sitio web]. México: FEUM. [Consultado: 23 mayo 2019]. Archivo pdf. Disponible en: <https://www.farmacopea.org.mx/Repositorio/Documentos/258.pdf>.

FERNANDEZ, Juliana y ARCILA, Luisa. Estudio de la fracción insaponificable obtenida del aceite extraído de la semilla de la *Luffa Cylindrica*. [en línea]. Tesis para optar el título de Tecnólogo Químico. Universidad Tecnológica de Pereira, 2008, p. 76. [Consultado: 02 julio 2019]. Disponible en: <https://docplayer.es/27921376-Estudio-de-la-fraccion-insaponificable-obtenida-del-aceite-extraido-de-la-semilla-de-la-luffa-cylindrica.html>

FERNANDES, P. y CABRAL, J.M.S. Phytosterols: Applications and recovery methods [en línea]. En: Bioresource Technology. Septiembre, 2007, vol. 98, p. 2335-2350. ISSN: 0960-8524. [Consultado: 04 febrero 2019]. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.10.006>

FUENTES, Maria E. y ARANDA, Marleny D. Metodología para extracción de aceite de la microalga *Nannochloropsis oculata* usando ultrasonido [en línea]. En: Revista del Instituto de Investigación de la Facultad de Geología, Minas, Metalurgia y Ciencias Geográficas. Julio, 2013, vol. 16, no. 32. p. 34-37. [Consultado: 14 marzo 2019]. Disponible en: https://www.usfx.bo/nueva/vicerrectorado/citas/TECNOLOGICAS_20/Ingenieria%20de%20Medio%20Ambiente/4677-15743-1-PB.pdf

GALVEZ, Luisa, *et al.* Caracterización del tamaño de semilla nodriza de aguacate Esther y el desarrollo de sus plántulas [en línea]. En: Revista Fitotecnia Mexicana. Marzo, 2016. Vol. 39, no. 1. p. 79-85. [Consultado: 25 Mayo 2019]. ISSN: 0187-7380. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-73802016000100012

GARCÍA, Aída, *et al.* An Analytical Simplification for Faster Determination of Fatty Acid Composition and Phytosterols in Seed Oils [en línea]. En: Food Analytical Methods. Noviembre de 2017, vol. 11, p. 1234-1242. [Consultado: 13 septiembre 2018]. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s12161-017-1111-z>

GARCIA, J, PARÉ, J.R y BÉLANGER, J. M. The Microwave Assisted Process (MAP™)1: Applications to the extraction of palm oil [en línea]. En: Palmas. 2000, vol. 21, p. 371-384. [Consultado: 18 febrero 2019]. Disponible en: <https://publicaciones.fedepalma.org/index.php/palmas/article/download/854/854/>

GANESANA V.; ROSENTRATERB, K. y MUTHUKUMARAPPANA K. Flowability and handling characteristics of bulk solids and powders – a review with implications for DDGS [en línea]. En: Biosystems Engineering. Diciembre, 2008, vol. 101, p. 425-435. [Consultado 02 Junio 2019]. ISBN: 1537-5110. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2008.09.008>

GÓMEZ, Juliana. Caracterización granulométrica de un producto comercial en polvo (suplemento dietario) y evaluación de la capacidad de dispersión en agua. [en línea]. Tesis para optar por el título de Pregrado en Química Farmacéutica. Universidad ICESI, 2016. p. 63. [Consultado: 10 julio 2019]. Disponible en: https://repository.icesi.edu.co/biblioteca_digital/bitstream/10906/81963/1/TG01475.pdf

GONZÁLEZ, José, *et al.* Coaxial microwave assisted hydrodistillation of essential oils from five different herbs (lavender, rosemary, sage, fennel seeds and clove buds): Chemical composition and thermal analysis. [en línea]. En: Innovative Food Science and Emerging Technologies. Febrero, 2016, vol. 33, p. 308-318. [Consultado: 17 marzo 2019]. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ifset.2015.12.011>.

GRANADOS, William y VALENCIA, Jenny. Cadena de aguacate (Indicadores e instrumentos). Agosto 2018. En: La República. [sitio web]. Colombia. [Consultado: 04 febrero 2019]. Archivo PDF. Disponible en: <https://imgcdn.larepublica.co/cms/2018/09/26180443/Aguacate.pdf?w=auto>

GRAND VIEW RESEARCH, INC. Phytosterols market to grow at 7.2% CAGR from 2014 to 2020 [en línea]. [Consultado: 04 febrero 2019]. Disponible en: <https://www.grandviewresearch.com/press-release/global-phytosterols-market>

GUTIÉRREZ M.C y DROGUET M. La cromatografía de gases y la espectrometría de masas: identificación de compuestos causantes de mal olor. En: CORE [sitio web]. Inglaterra: The Open University. [Consultado: 23 julio 2019]. Archivo pdf. Disponible en: <https://core.ac.uk/download/pdf/41780740.pdf>

HERNÁNDEZ, R, *et al.* Cuantificación de fitoesteroles en residuos industriales derivados de la molienda húmeda de maíz [en línea]. En: CyTA – Journal of Food. Agosto, 2011, vol. 9, no. 2, p. 102-108. [Consultado: 3 febrero 2019]. ISSN: 1947-6337. DOI: <https://doi.org/10.1080/19476337.2010.482747>

HIELSCHER. Ultrasonidos Extracción soxhlet [en línea]. [Consultado: 28 agosto 2019]. Disponible en: <https://www.hielscher.com/es/ultrasonic-soxhlet-extraction.htm>

HINTERMANN FELIX EDA HIX. Factores físicos que afectan al grano almacenando. En: Agriculture & Food Security Network. [sitio web]. Estados unidos: Agriculture & Food Security Network [Consultado: 29 mayo 2019]. Archivo pdf. Disponible en: https://www.shareweb.ch/site/Agriculture-and-Food-Security/focusareas/Documents/phm_postcosecha_factores_fisicos.pdf

HOUCK, Max y SIEGEL, Jay. Fundamentals of Forensic Science [en línea]. 3 rd. Academic Press, 2015. Separation Methods. p. 736. [Consultado: 16 mayo 2019]. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/C2013-0-12985-6>. ISBN. 978-0-12-800037-3.

HURTADO, Elena; FERNÁNDEZ, Alberto y CARRASCO, Alegría. Avocado fruit – *Persea americana* [en línea]. En: RODRIGUES, Sueli, DE OLIVEIRA SILVA, Ebenezer y SOUSA DE BRITO, Edy. Exotic Fruits Reference Guide. Londres: Academic Press, 2018. p. 37-48. [Consultado: 13 abril 2019]. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803138-4.00001-0>. ISBN: 978-0-12-803138-4.

HUNG, Blanca, *et al.* Fitoesteroles. Parte 2: Fuentes de obtención, formas de uso y posición actual en el mercado [en línea]. En: Cenic. Mayo-Agosto 2008, vol. 39, no. 2, p. 97-104. ISSN: 0253-5688. [Consultado: 04 febrero 2019]. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=181214890009>.

INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS Y CERTIFICACIÓN. Compendio de normas para trabajos escritos. NTC-1486-6166. Bogotá D.C.; El instituto, 2018. ISBN 9789588585673. 153 p.

_____. Grasas y Aceites Vegetales y Animales. Determinación del Índice de Yodo. NTC 283. Bogotá D.C.; El instituto, 2012. p. 1-12

_____. Grasas y Aceites Vegetales y Animales. Determinación del Índice de Peróxido NTC 236. Bogotá D.C.; El instituto, 2011. p. 1-12

_____. Grasas y Aceites Vegetales y Animales. Determinación del Índice de Acidez. NTC 218. Bogotá D.C.; El instituto, 2011. p. 1-15

_____. Grasas y Aceites Vegetales y Animales. Método de la determinación de la densidad (Masa por volumen convencional). NTC 336. Bogotá D.C.; El instituto, 2002. p. 1-14

_____. Grasas y Aceites Vegetales y Animales. Determinación de la materia insaponificable - Método de extracción con hexano NTC 235-2. Bogotá D.C.; El instituto, 2002. p. 1-9

_____. Grasas y Aceites Vegetales y Animales. Determinación del Índice de saponificación. NTC 335. Bogotá D.C.; El instituto, 1998. p. 1-5

_____. Oleaginosas. Determinación del contenido de Humedad y Materia Volátil. NTC 2228. Bogotá D.C.; El instituto, 1986. p. 1-4

ISLAM, M.A, *et al.* Phytosterol Determination and Method Validation for Selected nuts and Seeds [en línea]. En: Food Analytical Methods. Octubre, 2017, vol. 10. p. 3225-3234. [Consultado: 03 mayo 2019]. DOI: 10.1007/s12161-017-0877-3.

IXTAINA, Vanesa. Caracterización de la semilla y el aceite de chía (*Salvia hispánica* L.) obtenido mediante distintos procesos, aplicación en tecnología de alimentos. Trabajo de Tesis doctoral. Universidad Nacional de La Plata, 2010, p. 301. [Consultado: 02 Junio 2019]. Disponible en: <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/2679>

JAIN, R.K. y BAL, S. Properties of Pearl Millet. En: Journal of Agricultural and Engineering Research. Citado por MILANI, E., *et al.* Moisture dependent physical properties of cucurbit seeds [en línea]. En: International Agrophysics. Febrero, 2007, vol. 21. p. 159. [Consultado:23 mayo 2019]. ISSN: 0236-8722.

JEYARATNAM, Nitthiyah, *et al.* Essential oil from Cinnamomum cassia bark through hydrodistillation and advanced microwave assisted hydrodistillation [en línea]. En: Industrial Crops & Products. Diciembre, 2016, vol. 92, p. 57-66. [Consultado: 09 febrero 2019]. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.07.049>.

JIMÉNEZ, Ma Elena, *et al.* Propiedades físicas y químicas del aceite de aguacate obtenido de puré deshidratado por microondas [en línea]. En: Revista de la Sociedad Química de México. Abril, 2001, vol. 45, no. 2, p. 89-92. [Consultado: 09 febrero 2019]. Disponible en: <http://www.scielo.org.mx/pdf/rsqm/v45n2/v45n2a9.pdf>. ISSN: 0583-7693.

KALLINY, Silvana y ZAWISTOWSKI, Jerzy. Phytosterols and Phytostanols [en línea]. En: Encyclopedia of Food Chemistry. Vancouver: Elsevier, 2019, p. 289-299.

[Consultado: 04 febrero 2019]. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.21760-5>. ISBN.978-0-08-100596-5.

KANADEA, R. y BHATKHANDEB, D. Extraction of ginger oil using different methods and effect of solvents, time, temperature to maximize yield [en línea]. En: International Journal of Advances in Science Engineering and Technology. Septiembre, 2016, vol. 4. p. 241. [Consultado: 20 junio 2019]. ISSN 2321-9009. Disponible en: http://www.ijar.in/journal/journal_file/journal_pdf/6-291-1477120320241-244.pdf

KARIMI, M., *et al.* The Effect of Moisture Content on Physical Properties of Wheat [en línea]. En: Pakistan Journal of Nutrition. 2009, vol. 8, p. 90-95. [Consultado: 03 junio 2019]. ISBN: 1680-5194. Disponible en: <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.498.1190&rep=rep1&type=pdf>

KIBAR, H.; ÖZTÜRK, T. y ESEN, B. The effect of moisture content on physical and mechanical properties of rice (*Oryza sativa* L.) [en línea]. En: Spanish Journal of Agricultural Research. 2010, vol. 8, no. 3. p. 743. [Consultado: 22 mayo 2019]. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=3278087>

KITTIPHOOM, S. y SUTASINEE, S. Mango seed kernel oil and its physicochemical properties [en línea]. En: International Food Research Journal. 2013, vol. 20, no. 3. p. 1145 [Consultado: 20 Junio 2019]. ISSN 1985-4668. Disponible en: [http://www.ifrj.upm.edu.my/20%20\(03\)%202013/15%20IFRJ%2020%20\(03\)%202013%20Kittiphoom%20\(355\).pdf](http://www.ifrj.upm.edu.my/20%20(03)%202013/15%20IFRJ%2020%20(03)%202013%20Kittiphoom%20(355).pdf)

KUDRA, Tadeusz y STRUMILLO, Czeslaw. Thermal Processing of Bio-materials [en línea]. Amsterdam: Gordon and Breach Science Publishers, 1998, vol. 10, p. 55. [Consultado: 26 Mayo 2019]. Disponible en: https://books.google.com.co/books?hl=es&lr=&id=00pZDwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP1&dq=Thermal+Processing+of+Bio-materials&ots=m1J_28tw5o&sig=et2rZiTb2RoOnV1UjZVhaapisQ#v=onepage&q=Thermal%20Processing%20of%20Bio-materials&f=false

KUSUMA, H. S. y MAHFUD, M. Microwave-assisted Hydrodistillation for Extraction of Essential Oil from Patchouli (*Pogostemon cablin*) Leaves [en línea]. En: Periodica Polytechnica Chemical Engineering. 2017, vol. 61, no. 2, p. 82-92. [Consultado: 18 marzo 2019]. Disponible en: <https://doi.org/10.3311/PPch.8676>.

KUSUMA, H. S. y MAHFUD, M. Kinetic studies on extraction of essential oil from sandalwood (*Santalum album*) by microwave air-hydrodistillation method [en línea]. En: Alexandria Engineering Journal. Julio, 2018, vol. 57, no. 2, p. 1163-1172. [Consultado: 09 febrero 2019]. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.aej.2017.02.007>.

LAVILLA, Isela y BENDICHO, Carlos. Fundamentals of Ultrasound – Assisted Extraction [en línea]. En: DOMINGUEZ H. y GONZÁLEZ. M. Water Extraction of Bioactive Compounds. Amsterdam, (Netherlands): Elsevier, 2017. p. 291-316. [Consultado 9 marzo 2019]. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809380-1.00011-5>. ISBN: 978-0-12-809380-1

LAFONT, Jennifer; PÁEZ, Manuel y PORTACIO, Alfonso. Extracción y Caracterización Físicoquímica del Aceite de la Semilla (Almendra) del Marañón (*Anacardium occidentale* L) [en línea]. En: Información Tecnológica. 2011, vol. 22, no. 1, p. 51-58. [Consultado: 15 Julio 2019]. ISSN: 0718-0764. Disponible en: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0718-07642011000100007&lng=es&nrm=iso

LÓPEZ, Juan. Estandarización de la técnica de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas para la identificación y cuantificación de metilésteres de ácidos [en línea]. Trabajo de grado para optar al título de Tecnólogo Químico. Universidad Tecnológica de Pereira, 2008. p. 84. [Consultado: 29 Julio 2019]. Disponible en: <https://core.ac.uk/download/pdf/71395469.pdf>

LOU, Z., *et al.* Improved extraction of oil from chickpea under ultrasound in a dynamic system, citado por TAN, Chin Xuan, *et al.* Optimization of ultrasound-assisted aqueous extraction to produce virgin avocado oil with low free fatty acids [en línea]. En: Journal of Food Process Engineering. Abril, 2018, vol. 41, no. 2. p. 1-9. [Consultado: 12 marzo 2019]. DOI: 10.1111/jfpe.12656

MAGAÑA, Giovanni y SIBRIAN, Oscar. Propuesta del diseño para el escalamiento a planta industrial, partiendo de una planta piloto, para el precocido y beneficiado de arroz [en línea]. Trabajo de grado para optar al título de Ingeniero Químico e Ingeniero de Alimentos respectivamente. Universidad de El Salvador, 2008. [Consultado: 09 de mayo de 2019]. Disponible en: <https://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:SKrk2IHU05MJ:https://core.ac.uk/reader/11227702+&cd=1&hl=es&ct=clnk&gl=co>

MANRIQUE, Guillermo. Caracterización de grasas y aceites. En: Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires. [sitio web]. Buenos Aires. [Consultado: 25 agosto 2019]. Archivo pdf. Disponible en: https://www.fio.unicen.edu.ar/usuario/gmanrique/images/Grasas_y_Aceites.pdf

MARRERO, David, *et al.* Composición de ácidos grasos del aceite de las semillas de Moringa oleífera que crece en La Habana, Cuba [en línea]. En: Revista Cubana de Plantas Medicinales. Junio, 2014, vol. 19, no. 2. p. 197-204. [Consultado: 15 marzo 2019]. ISSN: 1028-4796. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962014000200008

MARTÍNEZ, Cristina y CARBAJAL, Ángeles. Componentes bioactivos de los alimentos. En: Kelloggs [sitio web]. Europa: Manual práctico de nutrición y salud – Kelloggs. [Consultado: 24 agosto 2019]. Archivo pdf. Disponible en: https://www.kelloggs.es/content/dam/europe/kelloggs_es/images/nutrition/PDF/Manual_Nutricion_Kelloggs_Capitulo_02.2.pdf

MATTHÄUS, B. Oxidation in Foods and Beverages and Antioxidant Applications. Amsterdam: Elsevier. 2010. Oxidation of edible oils. p. 432. [Consultado: 08 marzo 2019]. Disponible en: <https://doi.org/10.1533/9780857090331.2.183>. ISBN. 978-1-84569-983-3.

MCCABE, Warren L; SMITH, Julian C. y HARRIOTT, Peter. Operaciones en las que intervienen partículas de sólidos [en línea]. En: Operaciones unitarias en ingeniería química. 4 ed. México: Editorial McGraw-Hill, 1994. p. 1112. [Consultado: 22 mayo 2019]. Disponible en: <https://ingenieriapetroquimicaunefazulia.files.wordpress.com/2011/05/operaciones-unitarias-a.pdf>

MCCRONE, Walter y DELLY, John Gustav. The Particle Atlas: An encyclopedia of techniques for small particle identification. Citado por: KUDRA, Tadeusz y STRUMILLO, Czeslaw. En: Thermal Processing of Bio-materials [en línea]. Amsterdam: Gordon and Breach Science Publishers, 1998, vol. 10, p. 55 [Consultado: 25 Mayo 2019]. Disponible en internet: https://books.google.com.co/books?hl=es&lr=&id=00pZDwAAQBAJ&oi=fnd&pg=P1&dq=Thermal+Processing+of+Bio-materials&ots=m1J_28tw5o&sig=et2rZiTb2RoOnV1UjZVhaapisQ#v=onepage&q=Thermal%20Processing%20of%20Bio-materials&f=false

MEDINA, Nelly. Efecto del ultrasonido en la extracción y nanoencapsulación de polifenoles de limón persa (Citrus Latifolia) [en línea]. Tesis para optar por el título de Maestro en ciencia y tecnología en la especialidad de innovación biotecnológica. Centro de investigación y asistencia en tecnología y diseño del estado de Jalisco, a. c., 2017. [Consultado: 30 Julio 2019]. Disponible en: <https://ciatej.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1023/447/1/Nelly%20Carolina%20Medina.pdf>

MEJÍAS, Nildia; OROZCO, Eber y GALÁAN, Néstor. Aprovechamiento de los residuos agroindustriales y su contribución al desarrollo sostenible de México [en línea]. En: Ciencias Ambientales y Recursos Naturales. Diciembre, 2016, vol. 2, no, 6. p. 27-41. [Consultado: 04 febrero 2019]. ISSN. 2444-4936. Disponible en: https://www.ecorfan.org/spain/researchjournals/Ciencias_Ambientales_y_Recursos_Naturales/vol2num6/Revista_de_Ciencias_Ambientales_y_Recursos_Naturales_V2_N6_4.pdf

MELGAR, Bruno, *et al.* Bioactive characterization of *Persea americana* Mill. by-products: A rich source of inherent antioxidants [en línea]. En: Industrial Crops & Products. Enero, 2018, vol. 111, p. 212-218. [Consultado: 04 febrero 2019]. ISSN. 0926-6690. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.10.024>

MENÉNDEZ, María; KNOL, Diny y JANSSEN, Hans. Development and validation of methodologies for the quantification of phytosterols and phytosterol oxidation products in cooked and baked food products [en línea]. En: Journal of Chromatography A. Enero, 2016, vol. 1428, p. 316-325 [Consultado: 04 julio 2019]. ISSN: 0021-9673. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2015.09.073>

MIZUTANI, Yukiko, *et al.* Effects of heat treatment under low moisture conditions on the protein and oil in soybean seeds [en línea]. En: Food Chemistry. Marzo, 2019, vol. 275, p. 577-584. [Consultado: 27 marzo 2019]. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.09.139>.

MOHSENIN, Nuri. Physical Characteristics. En: Physical Properties of Plant and Animal Materials. Nueva York: Gordon and Breach Science Publishers. 1970. Citado por: DURSUN, I.; TUGRUL, K.M. y DURSUN, E. Some physical properties of sugarbeet seed [en línea]. En: Journal of Stored Products Research. 2007, vol. 43, no. 2. p. 150. [Consultado: 22 mayo 2019]. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2006.03.001>

MONTES, Everaldo; TORRES, Ramiro y Andrade, Ricardo. Determinación de los factores de forma de área (α) y volumen (β), de cristales de α -lactosa utilizando Microscopía Óptica [en línea]. En: Temas agrarios. Julio – Diciembre, 2008, vol. 13, no. 2, p. 17-24. [Consultado: 04 febrero 2019]. ISSN: 0122-7610. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=3021504>

MONTEALEGRE, Catalina. Etnobotánica preliminar del *Espíngo* (*Ocotea quixos* (Lam.) Kosterm.) en la medicina tradicional indígena inga, pruebas fitoquímicas y evaluación de la actividad antimicrobiana [en línea]. Trabajo de grado. Bióloga. Pontificia Universidad Javeriana, 2011. p. 83. [Consultado: 17 abril 2019]. Disponible en: <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/8875/tesis813.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

MORALES, Illán. Electroforesis. En: Departamento de programas audiovisuales. [sitio web]. México: Universidad Nacional Autónoma de México. [Consultado: 27 agosto 2019]. Archivo pdf. Disponible en: http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/Exposicion_electroforesis_5087.pdf

MORALES, Raquel y ROMERO, Mauricio. Estudio fitoquímico preliminar del fruto de la especie vegetal *Cyphomandra betacea* (Tomate de palo) e identificación de alcaloides esteroideos [en línea]. Trabajo de grado: Licenciatura en Química y

Farmacia. Universidad de El Salvador, 2009. p. 89. [Consultado: 08 marzo 2019]. Disponible en: <http://ri.ues.edu.sv/id/eprint/2821/>

MOREAU, Robert, *et al.* Phytosterols and their derivatives: Structural diversity, distribution, metabolism, analysis, and health-promoting uses. sources [en línea]. En: Progress in lipid research. Abril, 2018, vol. 70. p. 35-61. [Consultado: 04 abril 2019]. ISSN: 0163-7827. DOI: 10.1016/j.plipres.2018.04.001

MOREAU, Robert A, WHITAKER, Bruce D y HICKS, Kevin B. Phytosterols, phytostanols, and their conjugates in foods: structural diversity, quantitative analysis, and health-promoting uses [en línea]. En: Progress in lipid research. Noviembre, 2002, Vol. 41. p. 457-500. [Consultado 04 abril 2019]. ISSN: 0163-7827. DOI: 10.1016/S0163-7827(02)00006-1

MUÑOZ, Ana; ALVARADO, Carlos y ENCINA, Christian. Fitoesteroles y fitoestanoles: Propiedades saludables [en línea]. En: Horizonte Médico. Julio-Diciembre 2011, vol. 11, no. 2, p. 93-100. [Consultado: 13 septiembre 2018]. Disponible en: <http://doi.org/10.24265/horizmed>

NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. Campesterol [en línea]. [Consultado: 18 agosto 2019]. Disponible en: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Campesterol>

NEIKOV, O.; NABOYCHENKO, S. y YEFIMOV, N. Handbook of Non-Ferrous Metal Powders Technologies and Applications [en línea]. 2 ed. Estados Unidos: Elsevier, 2019, p. 995 [Consultado: 03 de junio de 2019]. Sección A, Powder Characterization and Testing. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780081005439000014>

OGINNI, Oluwatosin Jerry. Contribution of Particle Size and Moisture Content to Flowability of Fractioned Ground Loblolly Pine [en línea]. Tesis para optar por el título de Maestro en Ciencia. Universidad de Auburn, 2014. p.127. [Consultado: 08 mayo 2019]. Disponible en: <https://etd.auburn.edu/xmlui/handle/10415/4178>

OKLAHOMA STATE UNIVERSITY. Chapter 2 – Physical Attributes: Shape, Volume, Density, Porosity and Particle size Distribution. En: Biosystems and Agricultural Engineering. [sitio web]. Estados Unidos: Oklahoma State University [Consultado: 02 Junio 2019]. Archivo pdf. Disponible en: https://bae.okstate.edu/faculty-sites/jcarol/Class_Notes/BAE2023_Spring2011/

ORDOÑEZ, Matías; GELY, María y PAGANO, Ana. Estudio de las propiedades físicas y de la cinética de secado de granos de maíz colorado duro [en línea]. En: Avances en Ciencias e Ingeniería. Septiembre, 2012, vol. 3, p. 153-171.

[Consultado: 23 mayo 2019]. ISSN: 0718-8706. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=4052717>

OSPINA MACHADO, Julio Ernesto. Características físicas [en línea]. En: Características Físico Mecánicas y Análisis de Calidad de Granos. Bogotá D.C: Unidad de Publicaciones de la Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de Colombia, 2002. p. 191. [Consultado: 30 mayo 2019]. Disponible en: https://books.google.com.co/books/about/Caracter%C3%ADsticas_f%C3%ADsico_mec%C3%A1nicas_y_an.html?id=2DWmqb6xP3wC&redir_esc=y

PANIGUA, Rogelio. Evaluación de la capacidad antigenotóxica, antioxidante e inmunoestimulante de pteropodina y beta-sitosterol [en línea]. Tesis Doctoral en Ciencias Químico-biológicas. Instituto Politécnico Nacional, 2010, p. 63. [Consultado: 28 octubre 2018]. Disponible en: <http://www.remeri.org.mx/portal/REMERI.jsp?id=oai:tesis.ipn.mx:123456789/10628>

PANTANO, Laura y URREGO, Aura. Evaluación de la extracción de aceite de semillas de amapola mediante los métodos soxhlet y prensado en frío a nivel laboratorio [en línea]. Proyecto de grado para recibir el título de Ingeniero Químico. Fundación Universidad de América, 2018. p. 216. [Consultado: 03 de junio de 2019]. Disponible en internet: <http://repository.uamerica.edu.co/bitstream/20.500.11839/6957/1/6132204-2018-2-IQ.pdf>

PATTERSON, H.B.W. Quality and Control [en línea]. En: LIST, Gary y W. KING, Jerry. Hydrogenation of Fats and Oils. 2 ed. Academic Press and AOCS Press, 2011. p. 329-384. [Consultado: 05 mayo 2019]. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/C2015-0-02451-0>. ISBN. 978-1-893997-93-6.

PEREZ, Liliana. Evaluación de las fracciones granulométricas de la harina de sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) para la elaboración de una pasta alimenticia [en línea]. Trabajo final para optar por título de especialista en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Universidad Nacional de Colombia, 2010. p. 57. [Consultado: 30 mayo 2019]. Disponible en: <http://bdigital.unal.edu.co/2781/1/107403.2010.pdf>

PRODUCCIÓ AGRÀRIA ECOLÒGICA. El almacenaje de grano en producción agraria ecológica. En: PAE. [Sitio web]. España: Generalidad de Cataluña. [Consultado: 24 de agosto de 2019]. Archivo pdf. Disponible en: http://pae.gencat.cat/web/.content/al_alimentacio/al01_pae/05_publicacions_materia_referencia/arxiu/fichapae23_almacenajegrano_pae.pdf

RAJANTEREH, Yuvanesh. Extraction of Essential Oils from *Melaleuca alternifolia* sp. (Australian Tea Tree Plant) using Solvent Extraction Method [En línea]. Tesis para licenciatura en Ingeniería Química. Universidad Teknologi Petronas, 2015. [Consultado: 19 junio 2019]. Disponible en:

http://utpedia.utp.edu.my/16462/1/FYP%20Dissertation_15502_Yuvanesh%20Rajantereh_Chemical%20Engineering.pdf

RAMIREZ, Danibett, *et al.* Influencia del tamaño de partícula y la velocidad de agitación sobre el rendimiento de pectina [en línea]. En: Revista Cubana de Farmacia. Marzo, 2016. vol. 50, no. 1. p. 98-105. [Consultado: 10 mayo 2019]. ISSN: 1561-2988. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75152016000100009

RAMOS, Luciana, *et al.* Optimización de las variables de pretratamiento (microondas) en la extracción de aceite de canola [en línea]. En: AMADO, Jorge y FITO, Pedro. International Conference on Food Innovation Food Innova. Tercera edición. Concordia (Argentina): UNER, 2014. p. 85-95. [Consultado: 30 marzo 2019]. Disponible en: <https://eduner.uner.edu.ar/public/ebooks/-international-conference-on-food-innovation-foodinnova-2014.154637101908.pdf>. ISBN 978-950-698-379-6. ISBN. 978-950-698-379-6

REDDY, Mageshni, MOODLEY, Roshila y JONNALAGADDA, Sreekanth B. Fatty acid profile and elemental content of avocado (*Persea americana* Mill.) oil -effect of extraction methods [en línea]. En: Journal of Environmental Science and Health, Part B. Julio, 2012, vol. 47, no. 6. p. 529-537. [Consultado: 10 marzo 2019]. DOI: 10.1080/03601234.2012.665669

RESTREPO, Ana, *et al.* Comparación del aceite de aguacate variedad Hass cultivado en Colombia, obtenido por fluidos supercríticos y métodos convencionales: una perspectiva desde la calidad [en línea]. En: Revista Lasallista de investigación. Noviembre, 2012, vol. 9, no. 2, p. 151-161. [Consultado: 13 septiembre 2018]. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rlsi/v9n2/v9n2a16.pdf>

RINCON, Sandra y MARTÍNEZ, Daniel. Análisis de las propiedades del aceite de palma en el desarrollo de su industria [en línea]. En: Palmas. Agosto, 2009, vol. 30. no. 2, p. 11-24. [Consultado: 16 mayo 2019]. Disponible en: <https://publicaciones.fedepalma.org/index.php/palmas/article/view/1432>.

ROBAYO, Angie. Caracterización fisicoquímica de diferentes variedades de aguacate, *Persea americana* Mill. (Lauraceae) e implementación de un método de extracción del aceite de aguacate como alternativa de industrialización [en línea]. Tesis para optar al título de Magister en Ciencias - Química. Universidad Nacional de Colombia, 2016. p. 95. [Consultado: 07 febrero 2019]. Disponible en: <http://bdigital.unal.edu.co/56953/13/angietatianarobayomedina.2016.pdf>

RODRIGUEZ, Jessica. Implementación de análisis cuantitativo de índice de yodo para aceite de palma, aceite de pescado y sebo, en la compañía industrial de productos agropecuarios (CIPA S.A) [en línea]. Trabajo de grado Tecnólogo Químico. Universidad Tecnológica de Pereira, 2013. p. 64. [Consultado 15 Julio

2019]. Disponible en:
<http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:R2KzyKT1q-AJ:repositorio.utp.edu.co/dspace/bitstream/handle/11059/3899/6643R696.pdf%3Fsequence%3D1%26isAllowed%3Dy+&cd=2&hl=es&ct=clnk&gl=co>

RODRIGUEZ, Jose, *et al.* Optimización de un método para determinación de fitoesteroles y escualeno en ácidos grasos destilados usando la metodología de superficie de respuesta y su validación [en línea]. En: Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas. Octubre – Diciembre, 2014, vol. 45, no. 4, p. 2. [Consultado: 04 febrero 2019]. ISSN: 1870-0195. Disponible en:
http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-01952014000400005

RODRÍGUEZ, Paula., *et al.* Microwave-Assisted Water Extraction [en línea]. En: DOMINGUEZ, Herminia y GONZÁLEZ, María. Water Extraction of Bioactive Compounds. Ourense (España): Elsevier, 2017. p. 163-198. [Consultado: 09 febrero 2019]. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809380-1.00006-1>

ROJAS, Angel Francisco. Caracterización físico-mecánica de la semilla de Vitabosa (*Mucuna deeringiana*) [en línea]. Trabajo para optar por el título de Magíster en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Universidad Nacional de Colombia, 2010. p. 135. [Consultado: 03 junio 2019]. Disponible en:
<http://www.bdigital.unal.edu.co/1855/1/87571797.2010.pdf>

ROMERO, Johanna y VÁSQUEZ, Elsa. Fitoesteroles y Fitoestanoles: eficaces para la disminución de lípidos plasmáticos [en línea]. En: CES Salud Pública. Julio-Diciembre 2012, vol. 3, no. 2, p. 165-173. [Consultado: 13 septiembre 2018]. Disponible en:
http://revistas.ces.edu.co/index.php/ces_salud_publica/article/view/2313/1550

SALGADO, J.M. *et al.* The avocado oil (Persea americana Mill) as a raw material for the food industry. Citado por: FONSECA, Patricia, *et al.* Avocado: characteristics, health benefits and uses [en línea]. En: Ciencia Rural, Santa Marta. Abril, 2016, vol. 46, no.4, p. 751. [Consultado: 26 mayo 2019]. ISSN: 1678-4596. Disponible en:
<http://dx.doi.org/10.1590/0103-8478cr20141516>

SAMPAIO, Oscar; CALDAS, Eduardo y MEIRELLES, Antonio. The employment of ethanol as solvent to extract Brazil nut oil [en línea]. En: Journal of Cleaner Production. Enero, 2018, vol. 180, p. 866-875. [Consultado: 25 febrero 2019]. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.01.149>.

SANDERS, T.H. Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition [en línea]. 2 ed. Amsterdam: Elsevier, 2003. Ground nut oil. p. 2967-2974. [Consultado: 08 marzo 2019]. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/B0-12-227055-X/01353-5>. ISBN. 978-0-12-227055-0

SCOTTER, M.J. Colour Additives for Foods and Beverages [en línea]. Woodhead Publishing, 2015. Methods of analysis for food colour additive quality and safety assessment. p. 131-188. [Consultado: 05 mayo 2019]. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/B978-1-78242-011-8.00006-4>. ISBN. 978-1-78242-011-8.

SCHONS, Jessica, *et al.* Extração assistida por ultrassom e caracterização do óleo da castanha-do- brasil (*Bertholletia excelsa* H.B.K.) [en línea]. En: Interciencia. Septiembre, 2017, vol. 42, no. 9. p. 586-590. [Consultado: 17 marzo 2019]. Disponible en: [http://docplayer.com.br/66116195-Extracao-assistida-por-ultrassom-e-caracterizacao-do-oleo-da-castanha-do-brasil-bertholletia-excelsa-h-b k.html](http://docplayer.com.br/66116195-Extracao-assistida-por-ultrassom-e-caracterizacao-do-oleo-da-castanha-do-brasil-bertholletia-excelsa-h-b-k.html)

SEGOVIA, F.J., CORRAL-PÉREZ, J.J. y AL SEGOVIA, F.J., CORRAL-PÉREZ, J. J. y ALMAJANO, M.P. Avocado seed: Modeling extraction of bioactive compounds [en línea]. En: Industrial Crops & Products. Marzo, 2016, vol. 85. p. 213-220. [Consultado: 9 marzo 2019]. ISSN: 0926-6690. DOI: 10.1016/j.indcrop.2016.03.005

SETYANINGSIH, W., *et al.* Optimization of the ultrasound- assisted extraction of melatonin from red rice (*Oryza sativa*) grains through a response surface methodology. Citado por CAMPO, Yesenia; GELVEZ, Victor y AYALA, Alfredo. Ultrasonido en el procesamiento (homogenización, extracción y secado) de alimentos [en línea]. En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial. Enero – Junio, 2018, vol. 16, no. 1. p. 102-113. [Consultado: 13 marzo 2019]. ISSN: 1909-9959. DOI: 10.18684/bsaa.v16n1.628

SILVA, Paola, *et al.* Fuentes naturales de fitoesteroles y factores de producción que lo modifican [en línea]. En: Archivos Latinoamericanos de Nutrición. Enero 2016, vol. 66, no. 1, p. 017-024. ISBN: 0004-0622. [Consultado: 09 septiembre 2018]. Disponible en: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222016000100002&lng=es&nrm=iso&tlng=es

SPINELLA, Maria, *et al.* Extracción de aceite asistida por ultrasonido de granos de girasol alto esteárico alto oleico. En: Asociación Argentina de Ingenieros Químicos [sitio web]. Argentina: AAIQ [Consultado: 16 marzo 2019]. Archivo pdf. Disponible en: http://www.aaiq.org.ar/SCongresos/docs/06_029/papers/05a/05a_1816_159.pdf

SRIGLEY, Cynthia y HAILE, Ermias. Quantification of plant sterols/stanols in foods and dietary supplements containing added phytosterols [en línea]. En: Journal of Food Composition and Analysis. Junio, 2015, vol. 40, p. 163-176. [Consultado: 04 julio 2019]. ISSN: 0889-1575. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2015.01.008>

STRACCIA, Maria, *et al.* Extraction and Characterization of Vegetable Oils from Cherry Seed by Different Extraction Processes [en línea]. En: Chemical Engineering Transactions. Febrero, 2012, vol. 27. p. 391-396. [Consultado: 21 Junio 2019]. ISSN 19749791. DOI: 10.3303/CET1227066

SUMNU, Gülüm y SAHIN, Serpil. Recent Developments in Microwave Heating [en línea]. En: SUN, Da-Wen. Emerging Technologies for Food Processing. Ankara (Turquía): Elsevier, 2005. p. 419-444. [Consultado: 09 febrero 2019]. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/B978-012676757-5/50018-9>

TALAVERANO, Alagón. Determinación de compuestos fenólicos, carotenoides, fitoesteroles, tocoferoles, ácidos grasos y capacidad antioxidante en aceites extraídos de semillas de dieciséis accesiones de *Plukenetia Volubilis* L. (Sacha Inchi) [en línea]. Tesis de pregrado para obtener el título de Químico Farmacéutico. Universidad Católica de Santa María, 2012. p. 141. [Consultado: 04 febrero 2019]. Disponible en: <http://tesis.ucsm.edu.pe/repositorio/handle/UCSM/3839>

TAMAYO, Álvaro, *et al.* Tecnología para el cultivo de aguacate [en línea]. Colombia: Corpoica, 2008. Razas de aguacate, p. 242. [Consultado: 20 abril 2019]. Disponible en: <https://conectarural.org/sitio/sites/default/files/documentos/tecnologacultivoaguacate.pdf>. ISBN. 978-958-8311-74-6

TAN, Chin Xuan, *et al.* Optimization of ultrasound-assisted aqueous extraction to produce virgin avocado oil with low free fatty acids [en línea]. En: Journal of Food Process Engineering. Abril, 2018, Vol. 41, no. 2, p. 1-9. [Consultado: 12 marzo 2019]. DOI: 10.1111/jfpe.12656

THE SCIENCE EDUCATION RESOURCE CENTER AT CARLETON COLLEGE. GEL 324 Sedimentology Particle Shape Analysis. En: SERC [sitio web]. Estados Unidos: Universidad Carleton. [Consultado: 04 febrero 2019]. Archivo pdf. Disponible en: https://serc.carleton.edu/files/NAGTWorkshops/sedimentary/activities/particle_shape.pdf

TEKNOKROMA ANALÍTICA SA. Extracción en fase sólida. En: Tk [sitio web]. Barcelona: Extracción en fase sólida SPE. [Consultado: 18 mayo 2019]. Archivo pdf. Disponible en: <http://www.teknokroma.es/UserFiles/Filtracion/682.pdf>

TREMOCOLDI, Maria, *et al.* Exploration of avocado by-products as natural sources of bioactive compounds [en línea]. En: Plos One. Febrero, 2018, vol. 13, no. 2. p. 1-12. [Consultado: 10 marzo 2019]. DOI: 10.1371/journal.pone.0192577

TORO, Natalia y SUÁREZ, Liseth. Obtención y caracterización del aceite de las semillas de *Vitis labrusca* L. (Uva Isabella) y evaluación de su actividad antioxidante [en línea]. Tesis de pregrado para optar al título de Químico Industrial. Universidad Tecnológica de Pereira, 2012, p. 176. [Consultado: 03 julio 2019]. Disponible en: <http://recursosbiblioteca.utp.edu.co/tesis/textoyanexos/66029T686.pdf>

TURK, Mohammad, *et al.* Parameter optimization in microwave-assisted distillation of frankincense essential oil [en línea]. En: Comptes Rendus Chimie. Junio, 2018, vol. 21, no. 6, p. 622-627. [Consultado: 09 febrero 2019]. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.crci.2018.03.001>.

UGRA (Unidad de Gestión de Riesgos Agropecuarios). Ficha de inteligencia Aguacate. En: Finagro. [sitio web]. Colombia. [Consultado: 15 marzo 2019]. Archivo pdf. Disponible en: https://www.finagro.com.co/sites/default/files/node/basic-page/files/ficha_aguacate_version_ii.pdf

UNITED STATES PHARMACOPEIA, USP. Powder Flow. The United States Pharmacopeia Convention. [Sitio web]. Estados unidos: USP. [Consultado: 3 junio 2019]. Archivo pdf. Disponible en: https://www.usp.org/sites/default/files/usp/document/harmonization/gchapter/g05_pf_30_6_2004.pdf

UNIVERSIDAD DE ALICANTE. Espectrometría de masas. En: RUA [sitio web]. Alicante: Repositorio Institucional RUA. [Consultado: 24 febrero de 2019]. Archivo pdf. Disponible en: <https://rua.ua.es/dspace/bitstream/10045/8249/4/T5masas.pdf>

UNIVERSIDAD DE JAEN. Tema 6: Técnicas Cromatográficas. En: UJA [sitio web]. España: Universidad de Jaen [Consultado: 26 agosto 2019]. Archivo pdf. Disponible en: http://www4.ujaen.es/~mjayora/docencia_archivos/Quimica%20analitica%20ambiental/Tema6.pdf

UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA. Separaciones por cromatografía. En: ULPGC [sitio web]. España: Universidad de las Palmas de Gran Canaria. [Consultado: 26 agosto 2019]. Archivo pdf. Disponible en: https://www2.ulpgc.es/hege/almacen/download/39/39360/separaciones_por_cromatografia_1.pdf

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE CATALUNYA. El aceite vegetal. En: UPC [Sitio web]. Barcelona: Estudio de la viscosidad y densidad de diferentes aceites para su uso como biocombustible. Archivo pdf. [Consultado: 16 mayo 2019]. Disponible en: <https://upcommons.upc.edu/bitstream/handle/2099.1/9403/3.4.%20EI%20aceite%20vegetal.pdf?sequence=6&isAllowed=y>

USDA FOREST SERVICE Y SOUTHERN REGIONAL EXTENSION FORESTRY. Caracterización de las semillas. En: Reforestation, Nurseries, & Resources. [Sitio web]. Estados unidos: RNRG. [Consultado: 20 mayo 2019]. Archivo PDF. Disponible en: <https://rngr.net/publications/vivero-forestal-produccion-de-plantas-nativas-a-raiz-cubierta/caracterizacion-de-las-plantas>

UTHUS, L.; HOFF, I. y HORVLI, I. Evaluation of grain shape characterization methods for unbound aggregates. En: CiteSeer^x [sitio web]. Estados Unidos: Universidad Estatal de Pensilvania. [Consultado: 29 mayo 2019]. Archivo pdf. Disponible en: <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/summary?doi=10.1.1.133.9296&rank=1>

VIROT, Matthieu, *et al.* Green procedure with a green solvent for fats and oils' determination Microwave-integrated Soxhlet using limonene followed by microwave Clevenger distillation [en línea]. En: Journal of Chromatography A. Julio, 2008, vol. 1196-1197, p. 147-152. [Consultado: 11 febrero 2019]. DOI: 10.1016/j.chroma.2008.04.035.

VIROT, M, *et al.* Total lipid extraction of food using d-limonene as an alternative to n-hexane, Citado por CHEMAT, Farid, VIAN, Maryline y CRAVOTTO, Giancarlo. Green Extraction of Natural Products: Concept and Principles [en línea]. En: International Journal of Molecular Sciences. 2012, vol. 13, no. 7. p. 8615-8627. [Consultado: 1 abril 2019]. ISSN: 1422-0067. DOI: 10.3390/ijms13078615

WANG, Mengmeng, *et al.* Quantitative determination of free and esterified phytosterol profile in nuts and seeds commonly consumed in China by SPE/GC-MS [en línea]. En: LWT - Food Science and Technology. Febrero, 2019, vol. 100, p. 355-361. [Consultado: 15 febrero 2019]. ISSN: 0023-6438. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.10.077>

XUAN, Chin. Optimization of ultrasound-assisted aqueous extraction to produce virgin avocado oil with low free fatty acids [en línea]. En: Journal of Food Process Engineering. Noviembre, 2017, vol. 41:e12656, p. 1 – 2. [Consultado: 04 febrero 2019]. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/jfpe.12656>

ZHOU, Linyan, *et al.* Effect of microwave treatment on enzyme inactivation and quality change of defatted avocado puree during storage [en línea]. En: Innovative Food Science and Emerging Technologies. Octubre, 2016, vol. 37, p. 61-67. [Consultado: 18 febrero 2019]. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ifset.2016.08.002>.

ZHUANG, Xiaoci, *et al.* The effect of alternative solvents to n-hexane on the green extraction of Litsea cubeba kernel oils as new oil sources [en línea]. En: Industrial Crops & Products. Diciembre, 2018, vol. 126, p. 340-346. [Consultado: 02 abril 2019]. ISSN: 0926-6690. DOI: 10.1016/j.indcrop.2018.10.004

ANEXOS

ANEXO A
MATERIA PRIMA RECOLECTADA



ANEXO B
CARACTERIZACIÓN FÍSICA DE LAS SEMILLAS DE AGUACATE *Persea americana* Mill. Variedad Hass

Tabla 17. Dimensiones de las semillas de aguacate (*Persea americana* Mill. var Hass) utilizadas en la determinación del tamaño de partícula.

Partícula	Largo - a (mm)	Ancho - b (mm)	Espesor - c (mm)
1	38,05	35,05	33,8
2	29,3	27,3	27,1
3	30,9	29,6	29,2
4	35,1	34	32,9
5	29,7	29,3	28,3
6	33,7	33,3	32,6
7	29,5	28,5	28,3
8	38,6	34,8	33,2
9	35,1	33,5	32,7
10	28,1	26,5	24,6
11	30,7	30,1	29,4
12	24,8	23,2	22,6
13	40,5	40,2	32,8
14	42,1	39,7	39,3
15	37,8	35,7	34,5
16	27,5	27,5	25,4
17	36,6	36,1	34,7
18	32,7	31,4	29,4
19	33,8	33,15	29,3
20	28,5	26,5	25,1

Fuente: elaboración propia.

Tabla 18. Diámetros de partícula aritmético y geométrico de las semillas (*Persea americana* Mill. var Hass).

Partícula	Da	Dg
1	35,6333	35,5893
2	27,9000	27,8826
3	29,9000	29,8913
4	34,0000	33,9881
5	29,1000	29,0940
6	33,2000	33,1969
7	28,7667	28,7619
8	35,5333	35,4624
9	33,7667	33,7520
10	26,4000	26,3610
11	30,0667	30,0620
12	23,5333	23,5152
13	37,8333	37,6575
14	40,3667	40,3480
15	36,0000	35,9744
16	26,8000	26,7814
17	35,8000	35,7909
18	31,1667	31,1369
19	32,0833	32,0201
20	26,7000	26,6638
Promedio	31,7275	31,6964

Fuente: elaboración propia.

Tabla 19. Datos para la determinación de la densidad en masa (ρ)

Ensayo	m (g)	v_1 (mL)	v_2 (mL)	ρ (g/mL)
1	454,3	1000	1390	1,1649

Fuente: elaboración propia.

Tabla 20. Datos para la determinación de la esfericidad de las partículas (ϕ)

Ensayo	Dg	\bar{a}	ϕ
1	31,6965	33,1525	0.9561

Fuente: elaboración propia

Tabla 21. Datos para la determinación de la densidad aparente aireada ($\rho_{APA_{air}}$) y densidad aparente empacada ($\rho_{APA_{emp}}$)

Ensayo	m (g)	v_0	v_2	$\rho_{APA_{air}}$ (g/mL)	$\rho_{APA_{emp}}$ (g/mL)
1	455,2	920	880	0,4948	0,5173

Fuente: elaboración propia

Tabla 22. Datos para la determinación del factor de forma (λ)

Ensayo	No. de semillas	v_1 (mL)	v_2 (mL)	v_p (cm ³)	λ_a	λ_g
1	20	1000	1390	19,5	0,5173	0.6124

Fuente: elaboración propia

Tabla 23. Datos para la determinación del contenido de humedad y materia volátil de la semilla recién despulpada

Ensayo	m_1 (g)	m_2 (g)	M_0 (g)	% Humedad)
1	29,3300	26,5863	24,3139	54.7

Fuente: elaboración propia

Tabla 24. Datos para la determinación del contenido de humedad y materia volátil de la semilla luego del proceso de secado en horno durante un periodo de 48 horas

Ensayo	m_1 (g)	m_2 (g)	M_0 (g)	% Humedad)
1	31,0406	30,1998	24,3139	12.5


Fuente: elaboración propia

ANEXO C
DISTRIBUCIÓN DE LA MUESTRA SEGÚN EL TAMAÑO DE PARTÍCULA EN EL PROCESO DE TAMIZADO

MALLA		PESO (g)
#	Abertura (mm)	
12	1,7	162
14	1,4	151
16	1,18	241
20	0,84074	328
30	0,59436	384
40	0,4191	195
50	0,29718	41
70	0,21082	45
80	0,1778	15
100	0,14986	5
Fondo	-	4
Total		1571

ANEXO D

PROTOCOLO PARA LA EXTRACCIÓN ASISTIDA POR MICROONDAS

	Red Tecnoparque Colombia Nodo Bogotá	LINEA DE BIOTECNOLOGÍA Y NANOTECNOLOGÍA	Código: F-O- BIO-10 Rev:01 Fecha: Marzo 2015 Vigencia: Febrero 2017	Página 1-3
		GUÍA DE PRÁCTICA DE LABORATORIO		Versión 1

NOMBRE DEL PROYECTO: FITOESTEROLI	CÓDIGO: BN18-076
NOMBRE DE LA PRÁCTICA: EXTRACCIÓN ASISTIDA POR MICROONDAS.	

1. OBJETIVO

Evaluar el efecto del tiempo de extracción, solvente y la potencia del microondas sobre el rendimiento del aceite extraído partiendo de la semilla del aguacate (*Persea americana* mill. Var Hass) utilizando la técnica de extracción asistida por microondas.

2. PRINCIPIO DEL MÉTODO

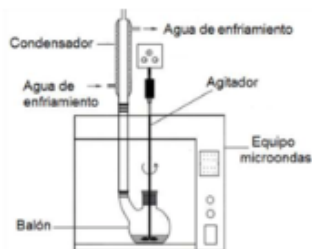
Las microondas son ondas electromagnéticas que comprenden un rango de frecuencia entre 300 MHz y 300 GHz y una longitud de onda entre 1m y 1 mm. Sin embargo, para propósitos industriales y científicos, la frecuencia utilizada comúnmente es de 2450 MHz que corresponde a una longitud de onda de 12.2 cm y una energía de 0.94 J/mol que provoca rotación y movimientos desorganizados de las moléculas afectadas por este tipo de radiación electromagnética.

Siendo una de las técnicas más eficientes debido a que ofrece beneficios ambientales por su tecnología de proceso "limpio", puesto que utiliza poco solvente o ninguno. Generando una menor cantidad de desechos y emisiones de gases de invernadero en él proceso, evitando así la contaminación.

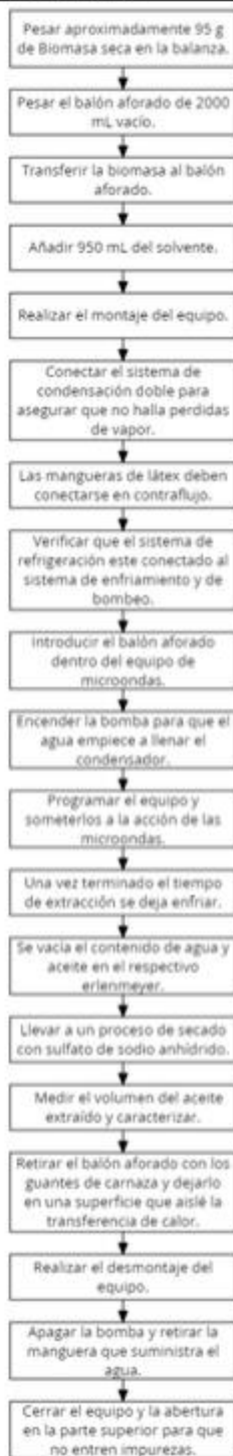
Durante el proceso de extracción, sucede una alineación de moléculas dipolares de la mezcla solvente-muestra debido a la exposición al componente eléctrico de las microondas, lo que produce migración de iones y rotación de moléculas con momentos dipolares generando consecuentemente energía en forma de calor. De manera general, aquellos compuestos con constantes dieléctricas altas (compuestos polares) absorben adecuadamente la energía microondas; las sustancias poco polares o compuestos que no poseen momento dipolar absorben pobremente la energía microondas, pero al tratarse de moléculas que sí tienen momentos dipolares constantes, la energía microondas será correctamente absorbida y transformada en calor.

Están compuestos esencialmente de los siguientes componentes: un generador de microondas, una cavidad interior (horno), un aislador, un ventilador de escape, un tubo hueco para ventilar gases, un disco giratorio dentro del horno y un minicomputador programable con monitor.

Figura 1. Esquema de los principales componentes de un equipo de hidroddestilación.



3. DIAGRAMA DE FLUJO DEL PROCEDIMIENTO



4. EQUIPOS, INSTRUMENTOS Y/O MATERIALES		
4.1. Materiales	4.2. Reactivos	4.3. Equipos
<ul style="list-style-type: none"> • (1) Balón aforado de 2000 ml de fondo redondo • (2) Erlenmeyer de 250 ml • (1) Probeta volumétrica de 1000 mL • (1) Vidrio de reloj • (1) Espátula • (2) Mangueras de látex • (1) Guantes de carnaza 	<ul style="list-style-type: none"> • Etanol • Agua destilada • Sulfato de sodio anhidro 	<ul style="list-style-type: none"> • Equipo de microondas • Balanza analítica


5. CÁLCULOS Y RESULTADOS
$\text{Rendimiento (\%)} = \frac{\text{Aceite extraído (g)}}{\text{Biomasa seca (g)}} \times 100$

6. REFERENCIAS
<p>BOLAÑOS, D., & CHAVES, D. (2014). <i>Evaluación de una tecnología emergente (Microondas) para la extracción de compuestos antioxidantes de cáscara de papa (Solanum tuberosum) de la variedad diacol capiro</i>. (Tesis de Pregrado). Universidad de Nariño, Pasto, Colombia.</p> <p>GARCIA, J.A., PARÉ, J., & BÉLANGER, J.M.R. (2000). El Proceso Asistido por Microondas (MAPTM): aplicaciones para la extracción de aceite de palma. <i>PALMAS</i>. 21 (No. Especial, Tomo 2), 371-384.</p> <p>ORTEGA, F., PÉREZ, O., URANGO, K y VÉLEZ, G. (2018). Extracción Rápida de Pectina a Partir de Cáscara de Maracuyá (<i>Passiflora edulis flavicarpa</i>) empleando Microondas. <i>Información Tecnológica</i>. 29(1), 129-136.</p> <p>RODRIGUEZ, C. (2013). <i>Estudio de la técnica de Extracción Asistida por Microondas (MAE) para su aplicación en la determinación de Hidrocarburos Totales de Petróleo (TPH's) en suelos</i>. (Tesis de pregrado). PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR, Quito.</p> <p>RUBIO, J. (2018). <i>Extracción de compuestos bioactivos mediante pretratamiento con microondas de subproductos vitivinícolas. Valorización del raspón de la uva</i>. (Tesis de pregrado). Universidad de Valladolid. España.</p>

ELABORADO POR:	REVISADO POR:	APROBADO POR:
Angela Tatiana Martínez Hernández Andrea Carolina Santana Parra	Ana María Gómez	Ana María Gómez
FECHA: Bogotá 2019	FECHA: Bogotá 2019	FECHA: Bogotá 2019

ANEXO E

PROTOCOLO PARA LA EXTRACCIÓN ASISTIDA POR ULTRASONIDO

	Red Tecnoparque Colombia Nodo Bogotá	LINEA DE BIOTECNOLOGÍA Y NANOTECNOLOGÍA	Código: F-O- BIO-10 Rev:01 Fecha: Marzo 2015 Vigencia: Febrero 2017	Página 1-3
		GUÍA DE PRÁCTICA DE LABORATORIO		Versión 1

NOMBRE DEL PROYECTO: FITOESTEROLI	CÓDIGO: BN18-076
NOMBRE DE LA PRÁCTICA: EXTRACCIÓN ASISTIDA POR ULTRASONIDO.	

1. OBJETIVO

Evaluar la extracción del aceite de la semilla del aguacate (*Persea americana* Mill. Var Hass) asistida con ultrasonido, en términos de rendimiento, utilizando como solvente el Etanol.

2. PRINCIPIO DEL MÉTODO

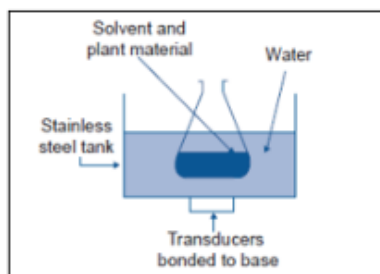
La técnica de extracción por ultrasonido permite el aislamiento de compuestos mediante el uso de sonidos con frecuencias entre 20 y 100 kHz que aumentan la transferencia de masa y por lo tanto el acceso del disolvente al material objetivo.

Uno de los procedimientos de extracción por ultrasonido se denomina baño ultrasónico, éste consiste en la aplicación de radiación ultrasónica a través de las paredes del recipiente en el que se encuentra la muestra. El uso de las frecuencias anteriormente mencionadas, induce cavitación en el proceso, es decir, la energía acústica aplicada en la muestra, produce cavidades o burbujas que implosionan en el líquido al interior del recipiente, lo cual mejora la penetración del disolvente hacia el sólido.

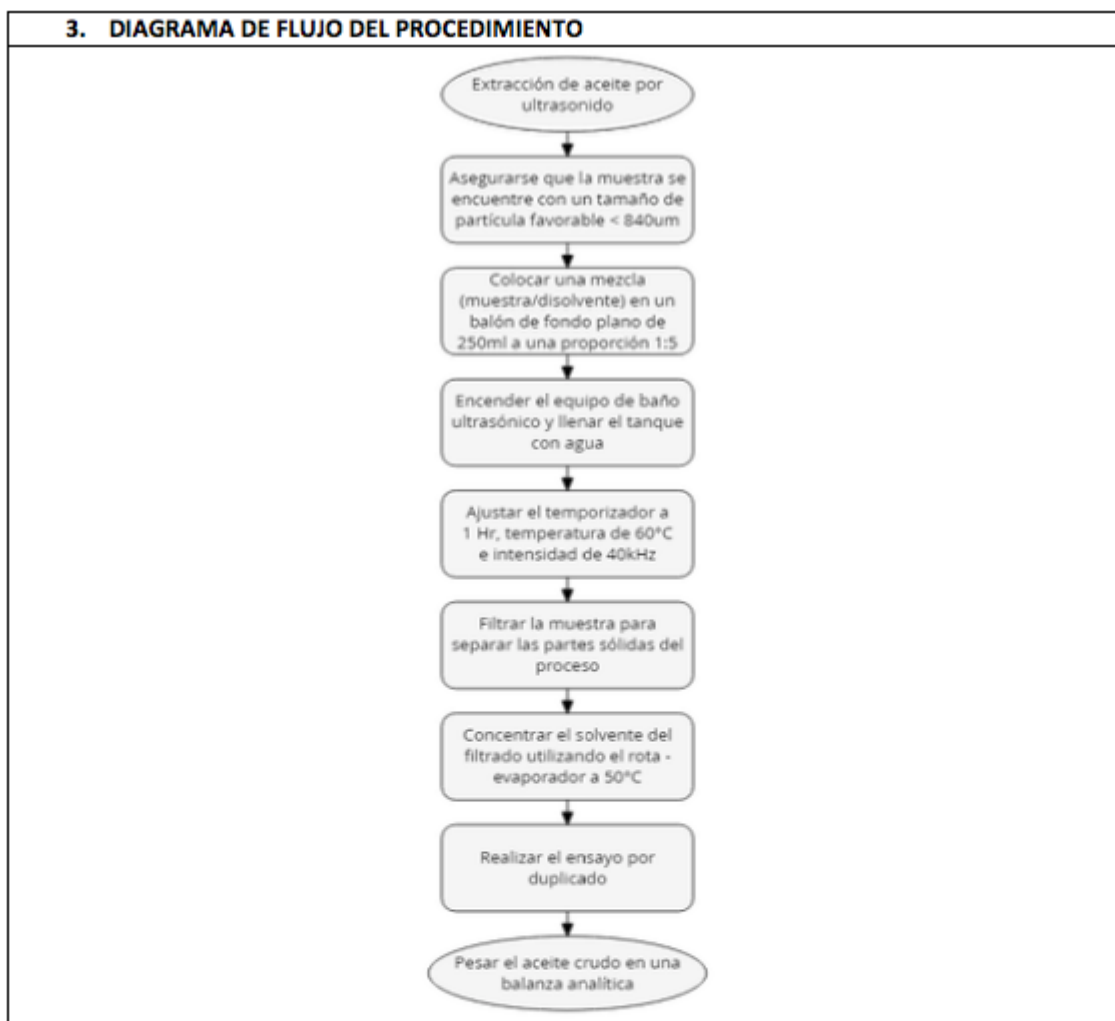
Esta técnica se caracteriza por reducir temperatura y tiempos en el proceso de extracción, utilizar menos cantidades de disolvente, permitir un mezclado efectivo y por consiguiente aumentar la transferencia de masa y energía del proceso; es considerada un procedimiento sustentable que emplea menos recursos, específicamente energía, agua y tiempo, por lo tanto, se considera una alternativa favorable en la extracción de componentes volátiles de material vegetal, incluyendo aceites esenciales.

El baño ultrasónico contiene un generador de energía, un medio líquido y un transductor capaz de convertir la energía eléctrica aplicada al equipo, en energía acústica. A continuación, se muestra un diagrama básico de esta técnica de extracción:

Figura 1. Esquema de los componentes de un baño ultrasónico.



3. DIAGRAMA DE FLUJO DEL PROCEDIMIENTO



4. EQUIPOS, INSTRUMENTOS Y/O MATERIALES

4.1. Materiales	4.2. Reactivos	4.3. Equipos
<ul style="list-style-type: none">• Materia prima molida y triturada• (1) Balón de fondo plano de 250 ml• (1) Probeta• (1) Vidrio de reloj• Papel de filtro• (1) Embudo• (1) Espátula• Implementos de seguridad	<ul style="list-style-type: none">• Etanol (98%)• Agua	<ul style="list-style-type: none">• Equipo de baño ultrasónico• Rotavaporador• Balanza analítica

5. CÁLCULOS Y RESULTADOS

$$\text{Rendimiento (\%)} = \frac{\text{Cantidad de aceite obtenido (mg)}}{\text{Cantidad de materia prima empleada (g)}}$$

6. REFERENCIAS

- ACOSTA ESQUIJAROSA, J., IZQUIERDO, S., SEVILLA, I. y NUEVAS, L. (2016). Empleo del ultrasonido para la extracción de fracción apolar en hojas de *Mangifera indica* L. (árbol del mango). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*. Cuba.
- CORONA, E., MARTÍNEZ, N., RUIZ, H. y CARRANZA, J. (2016). *Extracción asistida por ultrasonido de compuestos fenólicos de semillas de chía (Salvia hispánica L.) y su actividad antioxidante*. Universidad Autónoma de Puebla. México.
- SCHONS, J., FIORI, K., RIBEIRO, E., ANDRIGHETTI, C., NOGUEIRA, R. y MENDES, D. (2017). *Extracción asistida por ultrasonido y caracterización del aceite de la castaña-de-brasil (Bertholletia excelsa H.B.K.)*. *Revista Interciencia*. Brasil.
- PEREDO, H., PALOU, E. y LÓPEZ, A. (2009). *Aceites esenciales: métodos de extracción*. Universidad de las Américas Puebla. México.
- FUENTES, M. y ARANDA, M. (2013). *Metodología para extracción de aceite de la microalga Nannochloropsis oculata usando ultrasonido*. Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima. Perú.
- MEDINA, N. *Efecto del ultrasonido en la extracción y nanoencapsulación de polifenoles de limón persa (Citrus Latifolia)*. (2017) Tesis (Maestro en ciencia y tecnología en la especialidad de innovación biotecnológica). Centro de investigación y asistencia en tecnología y diseño del estado de Jalisco, A. C. Mérida.
- AZUOLA, R. y VARGAS, P., *Extracción de sustancias asistida por ultrasonido (EUA)*. (2007). *Revista Tecnología en Marcha*.
- SPINELLA, M., FERNÁNDEZ, M., NOLASCO, S. y FIGUEIREDO, A. *Extracción de aceite asistida por ultrasonido de granos de girasol alto esteárico alto oleico*. (2015). Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires. Argentina.

ELABORADO POR:	REVISADO POR:	APROBADO POR:
Andrea Carolina Santana Parra Angela Tatiana Martínez Hernández	Ana María Gómez	Ana María Gómez
FECHA: Bogotá 2019	FECHA: Bogotá 2019	FECHA: Bogotá 2019

ANEXO F
PORCENTAJE DE RENDIMIENTO DE ACEITE MEDIANTE LA EXTRACCIÓN
SOXHLET

Tabla 25. Contenido de aceite de la semilla de aguacate (Persea americana Mill. var. Hass) con la malla No. 10.

Ensayo	Aceite (g)	Porcentaje de rendimiento (%)
1	1.4053	5.6212
2	1.4077	5.6308
3	1.4065	5.6260
Promedio	1.4065	5.6260

Fuente: elaboración propia.

Tabla 26. Contenido de aceite de la semilla de aguacate (Persea americana Mill. var. Hass) con la malla No. 30.

Ensayo	Aceite (g)	Porcentaje de rendimiento (%)
1	2.6595	10.6380
2	2.6607	10.6428
3	2.6476	10.5904
Promedio	2.6559	10.6237

Fuente: elaboración propia.

Tabla 27. Contenido de aceite de la semilla de aguacate (Persea americana Mill. var. Hass) con la malla No. 40.

Ensayo	Aceite (g)	Porcentaje de rendimiento (%)
1	3.6375	14.5500
2	3.6426	14.5704
3	3.6298	14.5192
Promedio	3.6366	14.5165

Fuente: elaboración propia.

Tabla 28. Contenido de aceite de la semilla de aguacate (Persea americana Mill. var. Hass) con la malla No. 70.

Ensayo	Aceite (g)	Porcentaje de rendimiento (%)
1	2.8753	11.5012
2	2.8781	11.5124
3	2.8728	11.4912
Promedio	2.8754	11.5016

Fuente: elaboración propia.

Tabla 29. Contenido de aceite de la semilla de aguacate (*Persea americana* Mill. var. Hass) con la malla No. 100.

Ensayo	Aceite (g)	Porcentaje de rendimiento (%)
1	2.0583	8.2332
2	2.0031	8.0124
3	2.1092	8.4368
Promedio	2.0569	8.2275

Fuente: elaboración propia

ANEXO G
CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DEL ACEITE EXTRAÍDO DE LA SEMILLA DE AGUACATE

Tabla 30. Datos experimentales de la densidad relativa para el aceite de semilla de aguacate (*Persea americana* Mill. var Hass).

Ensayo	Densidad (g/mL)
1	0.9136
2	0.9158
3	0.9162
Promedio	0.9152

Fuente: elaboración propia.

Tabla 31. Datos experimentales del índice de refracción para el aceite de semilla de aguacate (*Persea americana* Mill. var Hass).

Ensayo	Índice de refracción (ND 20 °C)
1	1,4622
2	1,4608
3	1,4632
Promedio	1,4621

Fuente: elaboración propia.

Tabla 32. Datos experimentales del índice de saponificación para el aceite de semilla de aguacate (*Persea americana* Mill. var Hass).

Ensayo	V_0 (mL)	V_1 (mL)	c (mol/L)	m (g)	mg KOH / g
1	13.6	2.7	0.5	2.0055	152,4532
2	13.4	2.5		2.0057	152,4380
3	13.6	2.7		2.0056	152,4456
				Promedio	152,4456

Fuente: elaboración propia.

Tabla 33. Datos experimentales del índice de yodo para el aceite de semilla de aguacate (*Persea americana* Mill. var Hass).

Ensayo	V_1 (mL)	V_2 (mL)	c (mol/L)	m (g)	cg I / g
1	29	14	0.1	0.2016	94,4196
2	29.4	14.5		0.1998	94,6351
3	29.2	14.3		0.2009	94,1169
				Promedio	94.3905

Fuente: elaboración propia.

Tabla 34. Datos experimentales del índice de peróxidos para el aceite de semilla de aguacate (*Persea americana* Mill. var Hass).

Ensayo	V (mL)	V ₀ (mL)	c(mol/L)	m (g)	meq / kg
1	10	1	0.01	5.1000	17,6471
2	10	1.5		4.9939	17.0207
3	10.5	1.6		5.0963	17,4636
				Promedio	17.3771

Fuente: elaboración propia.

Tabla 35. Datos experimentales del índice de acidez para el aceite de semilla de aguacate (*Persea americana* Mill. var Hass).

Ensayo	V (mL)	c(mol/L)	m (g)	mg KOH / g	
1	7.5	0.1	10.0056	4,2051	
2	7.8		10.0055	4,3734	
3	7.6		10.0058	4,2611	
				Promedio	4,2797

Fuente: elaboración propia.

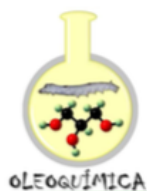
Tabla 36. Datos experimentales de la determinación de la materia insaponificable.

Ensayo	m ₀ (g)	m ₁ (g)	m ₂ (g)	%	g/kg	
1	5.1297	0.4631	0.0143	8.75	87.4905	
2	5.0286	0.4468	0.0126	8.63	86.3461	
3	5.0154	0.4517	0.0167	8.67	86.7328	
				Promedio	8.68	86.8665

Fuente: elaboración propia.

ANEXO H

CROMATOGRAMA DE LOS ESTÁNDARES DE FITOESTEROLES



REPORTE FITOESTEROLES 18-06-2019

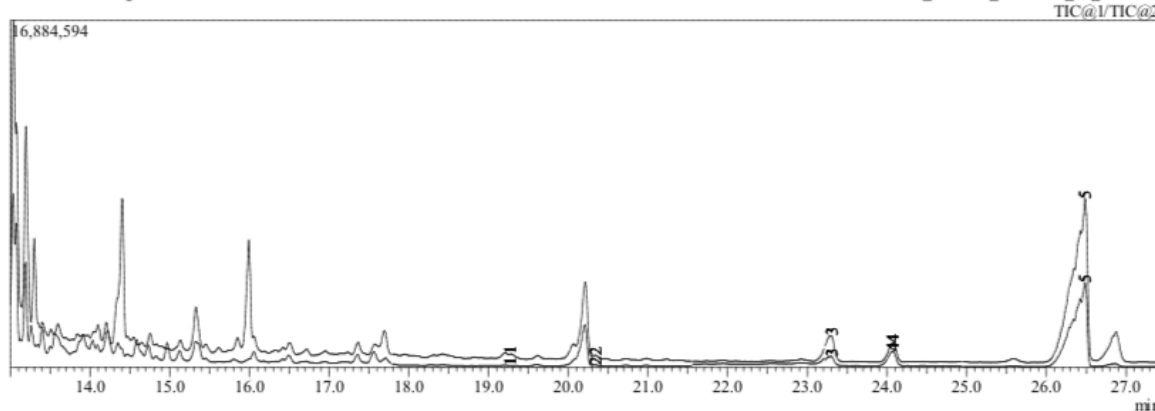


Sample Information

```

Analyzed by      : Admin
Analyzed        : 12-Jun-19 8:46:47 PM
Sample Type     : Unknown
Level #        : 1
Sample Name     : Muestra 1 12-06-19
Sample ID      : UNK-01
IS Amount      : [1]=1
Sample Amount   : 1
Dilution Factor : 1
Vial #         : 24
Injection Volume : 2.00
Data File      : C:\GCMSsolution\Data\ID=3 Servicios\ID=3-4 Fitoesteroles\12-06-2019\Muestra 1 12-06-19_UNK-01_12-Jun-19_1.qgd
Org Data File  : C:\GCMSsolution\Data\ID=3 Servicios\ID=3-4 Fitoesteroles\12-06-2019\Muestra 1 12-06-19_UNK-01_12-Jun-19_1.qgd
Method File    : C:\GCMSsolution\Data\ID=0 Method\Fitoesteroles\SH-Rxi-5Sil MS\Metodo\Fitoesteroles SIM.qgm
Org Method File : C:\GCMSsolution\Data\ID=0 Method\Fitoesteroles\SH-Rxi-5Sil MS\Metodo\Fitoesteroles SIM.qgm
Report File    :
Tuning File    : C:\GCMSsolution\Data\Tuning\Enero 2018\Tuning 28-05-2019.qgt
Modified by    : Admin
Modified       : 18-Jun-19 5:49:07 PM
    
```

Chromatogram Muestra 1 12-06-19 C:\GCMSsolution\Data\ID=3 Servicios\ID=3-4 Fitoesteroles\12-06-2019\Muestra 1 12-06-19_UNK-01_12-Jun-19_1.qgd



Peak#	R.Time	I.Time	F.Time	Area	Area%	Height	Height%	A/H	Mark	Name
1	19.283	19.257	19.440	1158184	2.16	239651	2.25	4.83	V	Stigmat-5-en-3-ol, oleate
2	20.341	20.290	20.415	1151953	2.15	230351	2.16	5.00	V	Cholesterol, TMS derivative
3	23.300	23.068	23.462	10692954	19.92	1258532	11.82	8.50	V	Campesterol, TMS derivative
4	24.072	23.895	24.220	6802861	12.67	941788	8.85	7.22		Stigmsterol, TMS derivative
5	26.486	26.442	26.633	33865923	63.10	7973925	74.91	4.25	V	.beta.-Sitosterol, TMS derivative
				53671875	100.00	10644247	100.00			

ANEXO I

ESPECTRO DE MASAS DE LOS COMPUESTOS IDENTIFICADOS Y SU COMPARACIÓN CON LA LIBRERÍA DEL EQUIPO

PICO 1

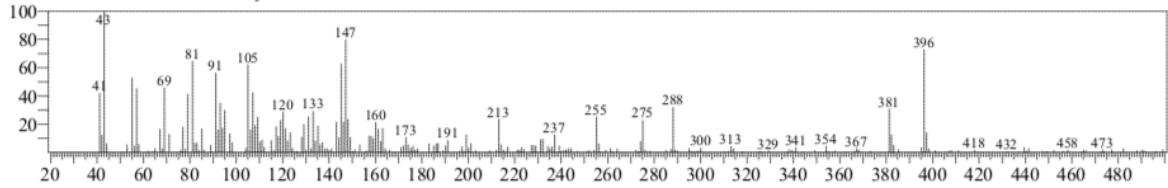
Library

<< Target >>

Line#:1 R.Time:19.282(Scan#:1507) MassPeaks:239

RawMode:Averaged 19.273-19.290(1505-1509) BasePeak:43.05(4364)

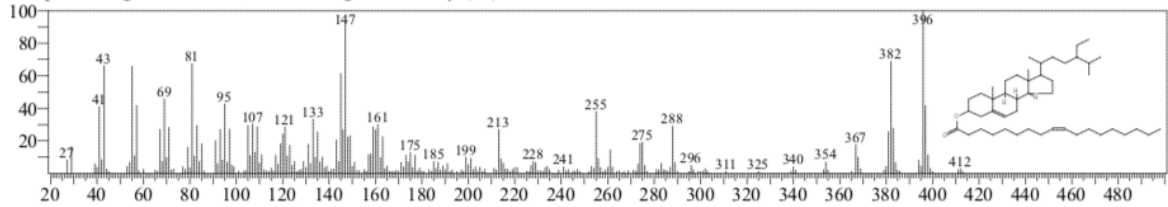
BG Mode:Calc. from Peak Group 2 - Event 1 Scan



Hit#:1 Entry:241127 Library:NIST14.lib

SI:83 Formula:C47H82O2 CAS:0-00-0 MolWeight:678 RetIndex:4469

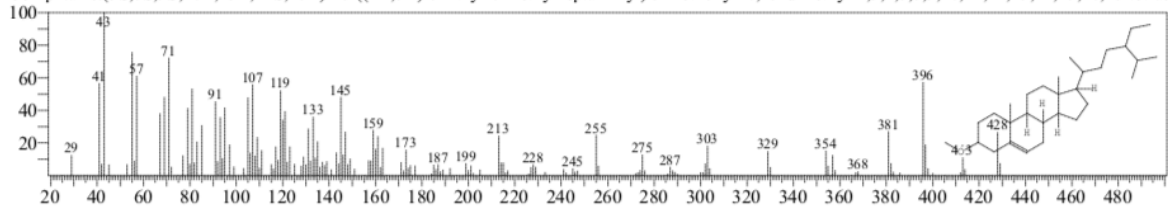
CompName:Stigmast-5-en-3-ol, oleate \$\$ Stigmast-5-en-3-yl (9Z)-9-octadecenoate # \$\$



Hit#:2 Entry:217429 Library:NIST14.lib

SI:82 Formula:C30H52O CAS:20194-50-7 MolWeight:428 RetIndex:0

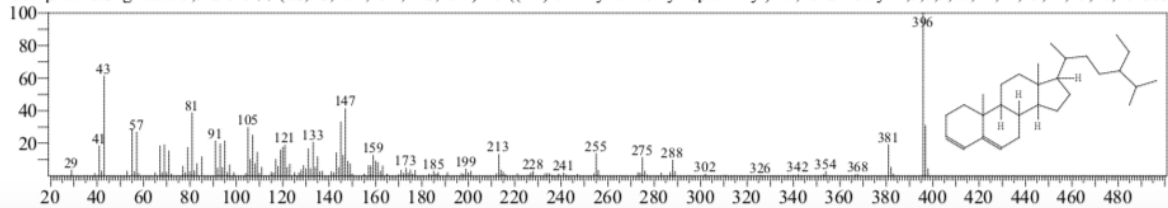
CompName:(3S,8S,9S,10R,13R,14S,17R)-17-((2R,5R)-5-Ethyl-6-methylheptan-2-yl)-3-methoxy-10,13-dimethyl-2,3,4,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-tetra



Hit#:3 Entry:204412 Library:NIST14.lib

SI:81 Formula:C29H48 CAS:79897-80-6 MolWeight:396 RetIndex:0

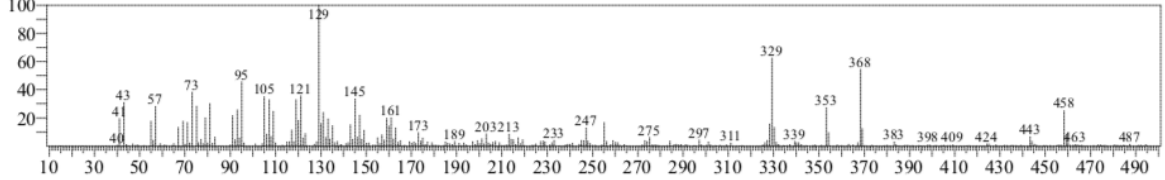
CompName:Stigmasta-3,5-diene \$\$ (8S,9S,10R,13R,14S,17R)-17-((2R)-5-Ethyl-6-methylheptan-2-yl)-10,13-dimethyl-2,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-dod



PICO 2

<< Target >>

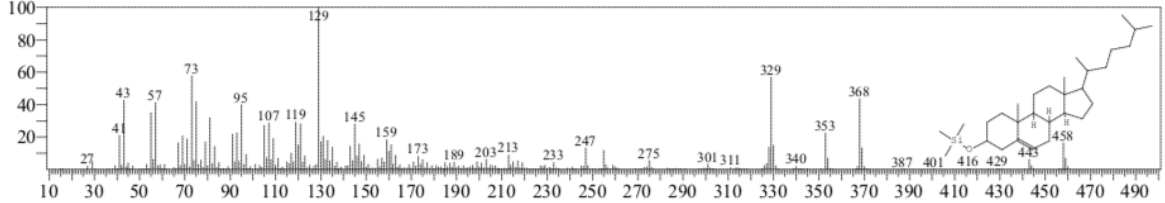
Line#:2 R.Time:20.340(Scan#:1761) MassPeaks:302
RawMode:Averaged 20.332-20.348(1759-1763) BasePeak:129.10(8301)
BG Mode:Calc. from Peak Group 2 - Event 1 Scan



Hit#:1 Entry:225747 Library:NIST14.lib

SI:93 Formula:C30H54OSi CAS:1856-05-9 MolWeight:458 RetIndex:2654

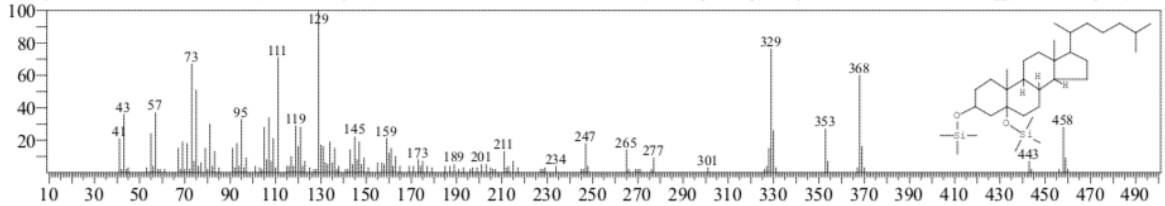
CompName:Cholesterol, TMS derivative \$\$ Cholesterol trimethylsilyl ether \$\$ Silane, [[(3.beta.)-cholest-5-en-3-yl]oxy]trimethyl- \$\$ Silane, (cholesteryloxy



Hit#:2 Entry:237214 Library:NIST14.lib

SI:85 Formula:C33H64O2Si2 CAS:33283-15-7 MolWeight:548 RetIndex:2902

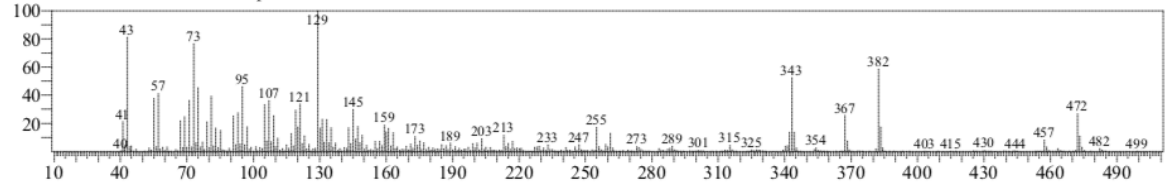
CompName:Cholestane-3,5-diol, (3.beta.,5.alpha.), 2TMS derivative \$\$ 3.beta.,5-Bis(trimethylsiloxy)-5.alpha.-cholestane \$\$ Silane, [[[3.beta.,5.alpha.)-ch



PICO 3

<< Target >>

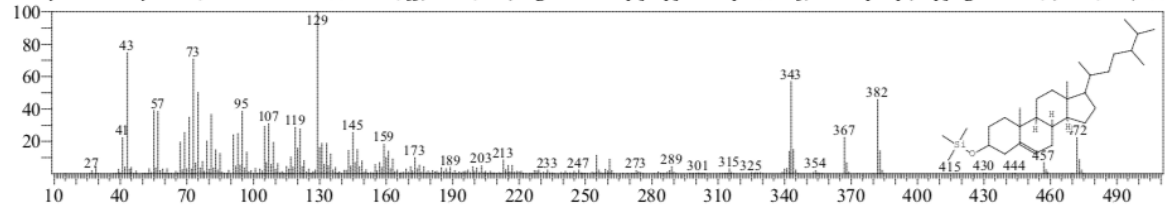
Line#:3 R.Time:23.303(Scan#:2471) MassPeaks:428
RawMode:Averaged 23.295-23.312(2469-2473) BasePeak:129.10(63411)
BG Mode:Calc. from Peak Group 4 - Event 1 Scan



Hit#:1 Entry:228673 Library:NIST14.lib

SI:97 Formula:C31H56OSi CAS:55429-62-4 MolWeight:472 RetIndex:2689

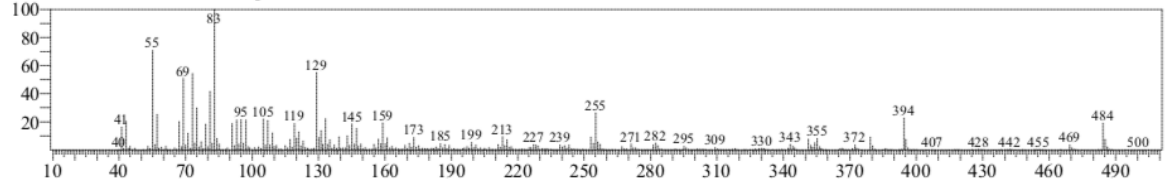
CompName:Campesterol, TMS derivative \$\$ Silane, [[(3.beta.,24R)-ergost-5-en-3-yl]oxy]trimethyl- \$\$ 3-[(Trimethylsilyloxy)ergost-5-ene, (3beta,24R)- \$\$



PICO 4

<< Target >>

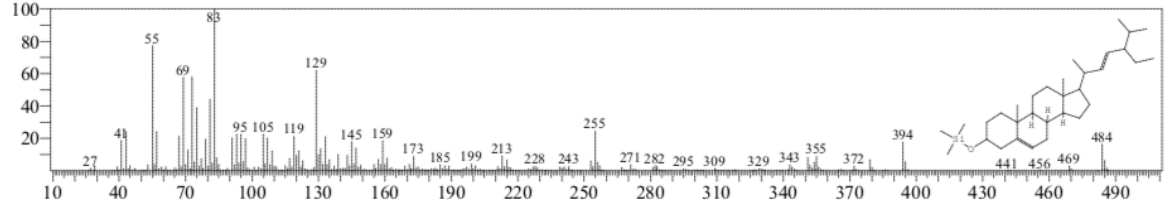
Line#:4 R.Time:24.070(Scan#:2655) MassPeaks:442
RawMode:Averaged 24.062-24.078(2653-2657) BasePeak:83.05(67261)
BG Mode:Calc. from Peak Group 4 - Event 1 Scan



Hit#:1 Entry:230854 Library:NIST14.lib

SI:97 Formula:C₃₂H₅₆O₅Si CAS:14030-29-6 MolWeight:484 RetIndex:2797

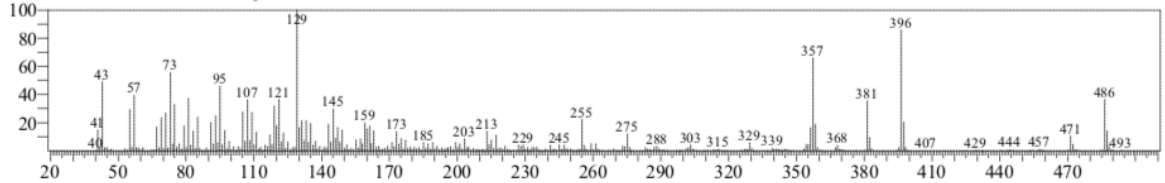
CompName:Stigmasterol, TMS derivative \$\$ Stigmasterol trimethylsilyl ether \$\$ Silane, trimethyl[[3.beta.,22E)-stigmaster-5,22-dien-3-yl]oxy]- \$\$ Silane, t



PICO 5

<< Target >>

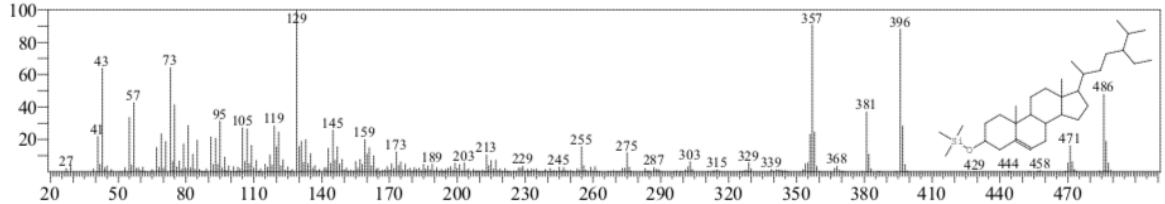
Line#:5 R.Time:26.483(Scan#:3233) MassPeaks:438
RawMode:Averaged 26.475-26.492(3231-3235) BasePeak:129.10(149150)
BG Mode:Calc. from Peak Group 5 - Event 1 Scan



Hit#:1 Entry:231162 Library:NIST14.lib

SI:93 Formula:C₃₂H₅₈O₅Si CAS:2625-46-9 MolWeight:486 RetIndex:2789

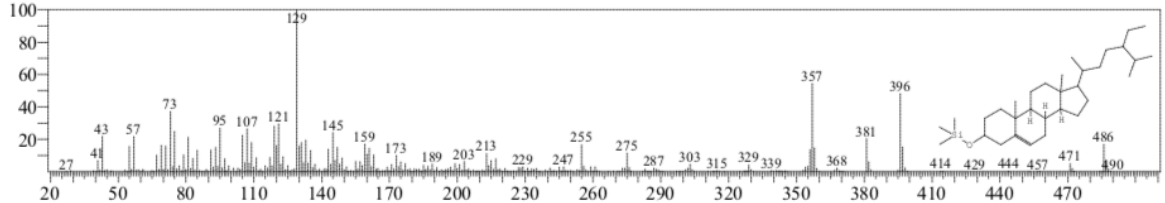
CompName:.beta.-Sitosterol, TMS derivative \$\$.beta.-Sitosterol trimethylsilyl ether \$\$ Silane, trimethyl[[3.beta.)-stigmaster-5-en-3-yl]oxy]- \$\$ Silane, trime



Hit#:2 Entry:231161 Library:NIST14.lib

SI:90 Formula:C₃₂H₅₈O₅Si CAS:25873-56-7 MolWeight:486 RetIndex:0

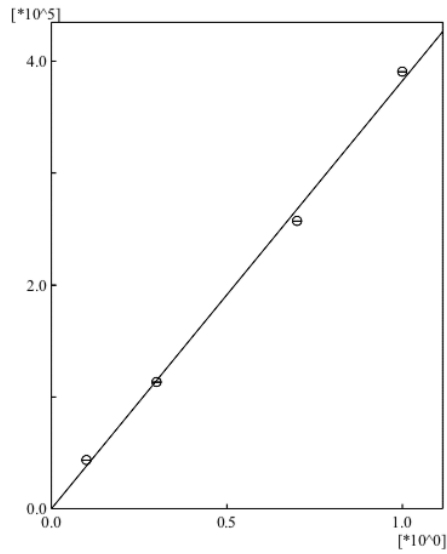
CompName:Stigmaster-5-ene, 3.beta.-(trimethylsiloxy)-, (24S)- \$\$ Silane, trimethyl[[3.beta.,24S)-stigmaster-5-en-3-yl]oxy]- \$\$ Silane, trimethyl(stigmaster-5-en



ANEXO J

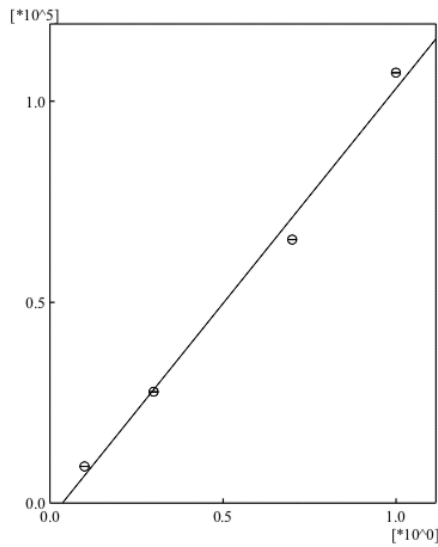
CURVA DE CALIBRACIÓN DE FITOESTEROLES

ID#:1 Mass:217.00 Name:Cholestane
 $f(x) = 382793.696786 * x + 183.059045$
 $r1 = 0.998582$ $r2 = 0.997165$
 MeanRF:392538.41 RFS:29498.26 RFRSD:7.51
 CurveType:Least Square Method
 ZeroThrough:Not Through
 WeightedRegression:None
 External Standard



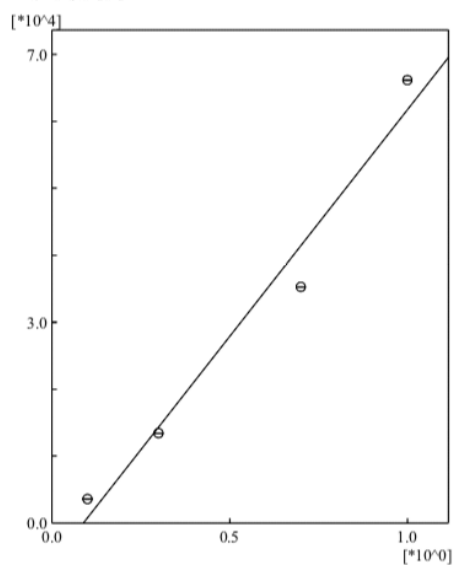
#	Conc. (ppm)	Mean Area
1	0.100	43447.00
2	0.300	113252.00
4	0.700	257313.00
5	1.000	390587.00

ID#:2 Mass:215.00 Name:Cholestan-3-ol, (3.beta.,5.alpha.)-, TMS derivative
 $f(x) = 107131.232085 * x - 3886.646885$
 $r1 = 0.995474$ $r2 = 0.990968$
 MeanRF:96041.67 RFS:7422.89 RFRSD:7.73
 CurveType:Least Square Method
 ZeroThrough:Not Through
 WeightedRegression:None
 External Standard



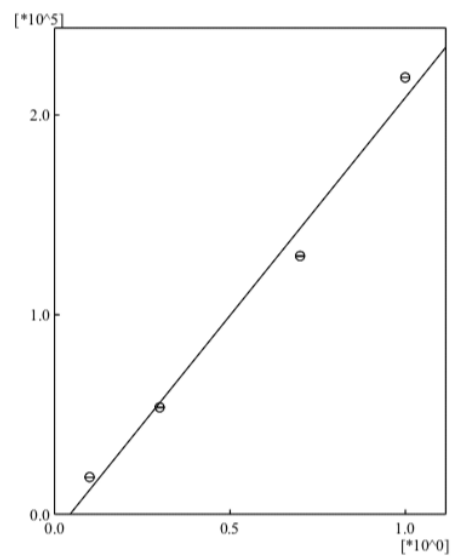
#	Conc. (ppm)	Mean Area
1	0.100	9115.00
2	0.300	27689.00
4	0.700	65555.00
5	1.000	107070.00

ID#:3 Mass:363.00 Name:Ergosterol, TMS derivative
 $f(x)=67762.872683x-5985.508184$
 $r1=0.985614$ $rr2=0.971434$
 MeanRF:49245.88 RFSD:12743.33 RFRSD:25.88
 CurveType:Least Square Method
 ZeroThrough:Not Through
 WeightedRegression:None
 External Standard



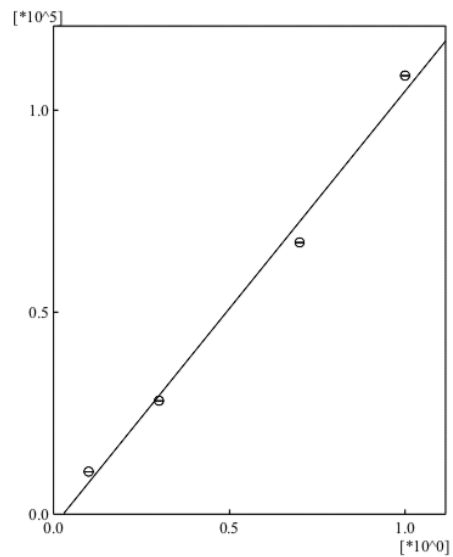
#	Conc. (ppm)	Mean Area
1	0.100	3580.00
2	0.300	13412.00
4	0.700	35254.00
5	1.000	66114.00

ID#:4 Mass:83.00 Name:Stigmasterol, TMS derivative
 $f(x)=218455.592466x-9687.186126$
 $r1=0.992858$ $rr2=0.985767$
 MeanRF:191965.72 RFSD:18056.86 RFRSD:9.41
 CurveType:Least Square Method
 ZeroThrough:Not Through
 WeightedRegression:None
 External Standard



#	Conc. (ppm)	Mean Area
1	0.100	18624.00
2	0.300	53488.00
4	0.700	129345.00
5	1.000	218551.00

ID#:5 Mass:129.00 Name:.beta.-Sitosterol, TMS derivative
 $f(x)=107724.975657*x-2980.862260$
 $r1=0.995616$ $rr2=0.991251$
 MeanRF:100781.17 RFS:7090.70 RFRSD:7.04
 CurveType:Least Square Method
 ZeroThrough:Not Through
 WeightedRegression:None
 External Standard



#	Conc. (ppm)	Mean Area
1	0.100	10498.00
2	0.300	28085.00
4	0.700	67228.00
5	1.000	108488.00