

# Evaluación del proceso de extracción de aceite de aguacate hass (*Persea americana* Mill) utilizando tratamiento enzimático\*

Buelvas Salgado, G. A.\*\*, Patiño Gómez, J. H.\*\*\*, Cano-Salazar, J. A.\*\*\*\*

## Resumen

**Introducción.** El aceite de aguacate es rico en vitaminas A, B, C y E, y está compuesto mayoritariamente por ácidos grasos monoinsaturados los cuales reducen de manera efectiva el nivel de colesterol en la sangre, ayudando en la prevención de enfermedades cardiovasculares. **Objetivo.** Evaluar el rendimiento de extracción de aceite de aguacate Hass (*Persea americana* Mill) en estado E3-M (maduro) procedente del Oriente Antioqueño, empleando complejos enzimáticos comerciales. **Materiales y métodos.** Para el desarrollo de esta investigación se realizó una caracterización fisicoquímica determinando el estado de madurez pertinente para la extracción aceite. La extracción enzimática se efectuó con tres complejos enzimáticos, Pectinex Novozym y Ultrazym, y tres niveles de concentración de enzima (150, 200 y 250 mL/t. de mezcla) para evaluar la cantidad de aceite extraído. **Resultados.** El mejor desempeño se logró con la enzima pectinex en una concentración de 200 mL de enzima/t, mezcla en la cual se obtuvo un rendimiento de extracción de aceite del 60% en el estado de madurez E3-M (maduro). **Conclusión.** El tratamiento con complejos enzimáticos es una alternativa viable para la extracción de aceite, ya que es posible degradar las cadenas de ácido galacturónico y liberar el aceite contenido en los ideoblastos del mesocarpio del aguacate Hass (*Persea americana* Mill).

**Palabras clave:** aguacate, extracción de aceite, enzima, madurez.

## Evaluation of the oil extraction from has avocado (*Persea americana* Mill) by the use of an enzymatic treatment

### Abstract

**Introduction.** Avocado oil is rich in vitamins A, B, C and E, and is mainly composed by monounsaturated fat acids, which effectively reduce cholesterol levels in blood, thus helping to prevent cardiovascular diseases. **Objective.** Evaluating the performance of Hass avocado (*Persea americana* Mill) oil extraction in E3-M (mature) from the East of Antioquia, by the use of commercial enzymatic complexes. **Materials and methods.** To develop this research work, a physical-chemical characterization was performed, determining the pertinent maturity state to extract the oil. The enzymatic extraction was performed with three enzymatic complexes, Pectinex Novozym nd Ultrazym, and three enzyme concentration levels (150, 200 and 250 mL/t. of mixture) to evaluate the quantity of extracted oil. **Results.** The best performance was achieved with the pectinex enzyme, in a concentration of 200 ml of enzima/t, mixture in which an oil extraction performance of 60% was obtained in the E3-M maturity state (mature). **Conclusion.** The treatment with enzymatic complexes is a feasible alternative to extract the oil, because it is possible to degrade the galacturonic acid chains and

\* Artículo derivado del proyecto de investigación "Extracción, caracterización y evaluación del aceite de aguacate Hass (*Persea americana*) con fines de uso gourmet", financiado por Colciencias a través de la convocatoria 502 – 2010 del programa I + D + i y ejecutada por la Fundación INTAL entre febrero y marzo de 2012.

\*\* Ingeniero Agroindustrial, Aspirante a Magíster en Ciencia y Tecnología de Alimentos, Asistente Técnico de Proyectos en Fundación INTAL

\*\*\* MSc, Director Fundación INTAL, Itagüí-Antioquia, director@fundacionintal.org

\*\*\*\* Ingeniero de alimentos, PhD, MSc, Ciencia y Tecnología de Alimentos Coordinador Científico-Técnico de Proyectos Fundación INTAL

Correspondencia: Buelvas Salgado, G. A., e-mail: asistecnico@fundacionintal.org

Artículo recibido: 20/06/2012; Artículo aprobado: 15/11/2012

free the oil contained in the idioblasts of the Hass avocado's (*Persea americana* Mill) mesocarp.

**Key words:** Avocado, oil extraction, enzyme, maturity

### **Avaliação do processo de extração de Óleo de abacate hass (*Persea americana* Mill) utilizando tratamento enzimático**

#### **Resumo**

**Introdução.** O óleo de abacate é rico em VITAMINAS A, B, C e E, e está composto majoritariamente por ácidos gordurosos monoinsaturados os quais reduzem de maneira efetiva o nível de colesterol no sangue, ajudando na prevenção de doenças cardiovasculares. **Objetivo.** Avaliar o rendimento de extração de óleo de abacate Hass (*Persea americana* Mill) em estado E3-M (maduro) procedente do Oriente Antioqueño, empregando complexos en-

zimáticos comerciais. **Materiais e métodos.** Para o desenvolvimento desta investigação se realizou uma caracterização físico-química determinando o estado de maturidade pertinente para a extração do óleo. A extração enzimática se efetuou com três complexos enzimáticos, Pectinex Novozym e Ultrazym, e três níveis de concentração de enzima (150, 200 e 250 ML/t. de mistura) para avaliar a quantidade de óleo extraído. **Resultados.** O melhor desempenho se conseguiu com a enzima pectinex numa concentração de 200 ml de enzima/t, mistura na qual se obteve um rendimento de extração de óleo de 60% no estado de maturidade E3-M (maduro). **Conclusão.** O tratamento com complexos enzimáticos é uma alternativa viável para a extração de óleo, já que é possível degradar as correntes de ácido galacturónico e liberar o óleo contido nos idioblastos do mesocarpo do abacate Hass (*Persea americana* Mill).

**Palavras importantes:** abacate, extração de óleo, enzima, maturidade.

---

## **Introducción**

El aguacate es un producto que está incluido en la Agenda Interna de Productividad, Competitividad y Visión 2019 de Colombia. Es por esto que la Gobernación de Antioquia viene promocionando el cultivo de la variedad Hass y su comercialización.

Las cifras de producción de aguacate del país en el año 2010 fueron de 201.869 toneladas, cifra que se acerca a las proyecciones planteadas en el año 2004 para el año 2010, en las cuales se esperaban 238 mil toneladas de aguacate. Sin embargo, simultáneas con este crecimiento, las pérdidas en poscosecha siguen siendo factor limitante para la comercialización del producto; para minimizar este impacto y generar valor agregado se buscan alternativas tecnológicas que sean viables para su industrialización; una de ellas es la obtención de aceite extra virgen para fines culinarios, cosméticos e industriales.

El aguacate es una fruta que contiene una alta proporción de ácidos grasos monoinsaturados, una baja cantidad de ácidos grasos saturados y cero colesterol, y es rico en vitamina E, vitamina B6, ácido ascórbico,  $\beta$ -caroteno y potasio<sup>1</sup>.

La cantidad de ácidos grasos saturados varía entre un 10 al 19 por ciento, dependiente de la variedad y el estado de madurez; es comparable al aceite de girasol, de maíz, de oliva, de soya y de cacahuate<sup>2</sup>. En cuanto a los ácidos grasos monoinsaturados, el ácido oleico está presente hasta en un 80% del total de los ácidos grasos. Los ácidos grasos polinsaturados del aceite de aguacate están entre 11 y 15 por ciento<sup>3</sup>; esto hace que el aceite de aguacate sea adecuado para el consumo humano, así como una excelente fuente de grasa en las dietas destinadas a reducir las enfermedades cardiovasculares<sup>4</sup>.

Los aceites para mesa y cocina suponen un porcentaje importante del gasto básico en alimentos de todos los estratos socioeconómicos. Lo anterior es importante si se tiene en cuenta que aproximadamente el 40% de los ingresos de los colombianos son gastados en alimentos. Sin embargo, podríamos afirmar que los aceites de alta calidad en Colombia son un producto de lujo y su consumo está limitado exclusivamente a la clase alta<sup>5</sup>. El resto de la población colombiana utiliza productos sustitutos como el aceite de girasol, el aceite de soya o las margarinas, ya que su precio en el mercado es muy inferior. El aceite de aguacate

para cocinar es un nuevo producto con excelente sabor y beneficios nutricionales que rápidamente se ha ido posicionando como primera elección de los chefs alrededor del mundo. Es por esto que el aceite de aguacate tiene perspectivas favorables para las exportaciones a escala internacional<sup>6</sup>.

Existen diferentes técnicas en la extracción del aceite de aguacate. Uno de los métodos de extracción propuestos se fundamenta en el uso de disolventes orgánicos. Sin embargo, informes indican que este tipo de extracción con disolventes produce ácidos grasos trans (AGT); por ejemplo, cuando se extraen con hexano (70 °C) y acetona (55 °C) se forman 0,3 y 0,45 g/100 g de ácidos grasos trans, respectivamente<sup>7</sup>. Estos AGT consumidos en grandes cantidades originan problemas circulatorios y de obesidad al incrementar el colesterol LDL (lipoproteína de baja densidad) en la sangre<sup>8</sup>. Sin embargo, las extracciones con solventes y fluidos supercríticos son técnicas usadas en la industria cosmética, mientras que los aceites extraídos por métodos mecánicos y enzimáticos, son usados para la industria alimentaria.

En Colombia, Chile y México, se están investigando métodos de extracción mediante procesos enzimáticos combinados con métodos mecánicos para aumentar el rendimiento. Los preparados celulolíticos comerciales se han aplicado con éxito para facilitar y aumentar la liberación del aceite contenido en los idioblastos del mesocarpio<sup>9</sup>.

Los estudios de extracción enzimática emplean diferentes condiciones de extracción, tales como pH, temperatura, tiempo de incubación de la enzima, composición del sustrato, velocidad de agitación y métodos de separación del aceite, ya que el estado de madurez de la fruta incide sobre el rendimiento; por tanto, se realizará un estudio de caracterización física y química del aguacate Hass (*Persea americana* Mill). Esto se debe a que durante la maduración, después de ser cosechado el fruto de aguacate, el contenido de agua en este es gradualmente remplazado por aceite<sup>10</sup>. Esta afirmación es comparada en un estudio de la Universidad de Guanajuato, México, que evalúa el contenido de aceite en aguacate Hass (*Persea americana* Mill) para diferentes esta-

dos de madurez y el cual obtuvo los siguientes porcentajes de aceite: 23,41% para estado sobremaduro, 22,88% estado maduro y 22,24% estado sin madurar. Para el presente estudio se descarta el estado sobremaduro, de acuerdo con recomendaciones de Corpoica que afirma que la extracción de aceite en aguacates sobremaduros favorece la oxidación del aceite del mismo.

Con base en lo anterior, el objetivo de este trabajo es evaluar la acción de enzimas comerciales Pectinex, Novozym y Ultrazym, para establecer los mejores rendimientos de extracción de aceite de aguacate, en un estado de madurez E3-M (maduro).

## Materiales y métodos

### Reactivos

Las enzimas utilizadas fueron suministradas por Coldanzimas Ltda. Pectinex, Novozym y Ultrazym las cuales tienen como enzimas declaradas Poligalacturonasa para Pectinex obtenido de *Arpergillus Aculeatus*, Poligalacturonasa y celulasa para Ultrazym obtenido de *Arpergillus Aculeatus* y *Arpergillus Niger*, y Pectinoliase para Novozym a partir de *Arpergillus Aculeatus*, *Arpergillus Niger* y *Trichoderma Reesei*.

### Material vegetal

El material vegetal utilizado para la investigación (*aguacate Hass Persea americana* Mill), fue suministrado por la empresa Taconacho, obtenidos del oriente antioqueño, (Rionegro y El Retiro).

### Caracterización del fruto de aguacate

#### Pruebas fisicoquímicas

La caracterización fisicoquímica se realizó para el estado de madurez E-M3 (maduro). Adicionalmente se realizaron pruebas de % $X_{bh}$ ,  $A_w$ , pH, % Acidez, ° Brix, a los estados de madurez E1-V (verde), E2-P (pintón).

El procedimiento que se describe a continuación, se realizó para cada estado de madurez. Los aguacates fueron pelados manualmente retirando la cáscara de la semilla, posteriormente se homogeneizó la pulpa. El pH se de-

terminó usando un titulador automático marca Hanna pH 211 por inmersión del electrodo en la muestra, con previa calibración en soluciones de pH de 4 y 7. El color se determinó utilizando el espectro colorímetro X-RITE con iluminante D65 modelo SP62. El análisis de textura se hizo a partir de ensayos de punción con una prensa universal, analizador de textura TA.XT2i de la marca Stable Micro Systems SMS. Los sólidos solubles (°Brix) se determinaron midiendo el índice de refracción a 20°C de las muestras de aguacate en un refractómetro FG109/119 (NTC 4624). La acidez titulable se determinó por titulación con NaOH 0.1N utilizando fenolftaleína como indicador, y expresada en porcentaje de ácido cítrico por 100 g de muestra, según la norma NTC 4623. La humedad (Xbh) se determinó según el método gravimétrico directo de la AOAC 926.08/ 2000, 930.15/90, de pérdida de peso por evaporación de agua en estufa BINDER FD 53-ULE2 y balanza humidímetro marca Ohaus MB 35. La actividad de agua (aw) se determinó con un higrómetro de punto de rocío a 25°C (Aqualab Decagón modelo CX3).

El índice de madurez se determinó para cada condición como la relación existente entre los sólidos solubles y la acidez a través de la siguiente ecuación:

$$\text{Índice de Madurez} = \frac{^{\circ}\text{Brix}}{\% \text{Acidez}} \quad (1)$$

Las pruebas de acidez, pH, sólidos solubles (°Brix), humedad y actividad de agua ( $a_w$ ) fueron determinadas a partir de tres réplicas para las muestras de aguacate Hass (fresco, entero y en tres estados de madurez E1-V (Verde), E2-P (Pintón), E-M3 (Maduro)); para la textura se realizaron cuatro réplicas para cada estado de madurez. En el caso del color se realizaron 5 lecturas por cara, con 10 réplicas para cada estado de madurez.

### Pruebas bromatológicas

Estas pruebas se realizaron para aguacate Hass en estado de madurez E3-M (maduro).

Determinación de grasa Extracción Soxhlet (Basados en NTC 668)

Determinación de proteína. Kjeldahl (basado en NTC 4657).

### Tratamiento enzimático

Se seleccionaron lotes homogéneos de frutos de aguacate; los frutos fueron lavados sumergiéndolos en agua pura por un espacio de 10 minutos, se retiraron impurezas mayores del exterior de los frutos y luego se desinfectaron en una solución de 2% de citosan, por espacio de 10 min. Se hizo el despulpado de los frutos con un corte del pericarpio para extraer la cáscara y la semilla; este procedimiento fue realizado de forma manual. Se prepararon emulsiones de aguacate Hass más agua, en una proporción 1:3 (1 parte pulpa: 3 partes de agua), las cuales se homogeneizaron por medio mecánico con un tiempo aproximado de 30 s, hasta lograr una emulsión. Una vez formadas las alícuotas se ajustó el pH con una solución de ácido cítrico hasta obtener el pH  $5 \pm 0.02$ . Se llevaron alícuotas de 600 mL a tratamiento térmico hasta alcanzar una temperatura de 45°C con agitación constante de 250 revoluciones por minuto. La hidrólisis se realizó con tres enzimas comerciales Pectinex, Novozym y Ultrazym, y en tres concentraciones 100 mL enzima / t de producto, 150mL enzima / t de producto y 200mL enzima / t de producto. La enzima se adicionó cuando el pH y la temperatura alcanzaron los valores de pH  $5 \pm 0.02$ , y temperatura de 45°C; la incubación de la enzima fue, para todos los ensayos, de 2 horas. Terminado el período de incubación, se centrifugaron las muestras a 4000 revoluciones por minuto por espacio de 30 min para la extraer el aceite.

Para determinar el rendimiento de extracción, se establece la relación matemática entre la cantidad de grasa total presente en la matriz alimentaria y la cantidad de grasa retirada en forma de aceite mediante la aplicación del tratamiento enzimático; esto se consigue aplicando la siguiente ecuación.

$$\%R = \frac{gr(\text{aceite})}{gr(\text{grasa, total})} = *100\% \quad (2)$$

### Diseño experimental

Para el desarrollo del presente estudio se siguió un diseño factorial completamente al azar;

todas las pruebas se realizaron a tres muestras, en tres concentraciones y por triplicado. El análisis de los resultados fue a partir de ANOVA, utilizando el método LSD (mínimas diferencias significativas) como método de comparaciones múltiples, con un nivel de significación del 95% (valor  $p=0.05$ ). El análisis de varianza fue realizado con el paquete estadístico STATGRAPHICS plus versión Centurion XVI.

## Resultados y discusión

### Análisis fisicoquímicos

La figura 1 muestra el comportamiento de la actividad acuosa del aguacate Hass fresco y entero, a diferentes estados de madurez identificados como E1-V (Verde), E2-P (pintón), E3-M (maduro) se observan valores cercanos 0.99; este comportamiento es típico en las frutas y hortalizas frescas, en las cuales actúa como facilitador de las reacciones metabólicas: químicas, enzimáticas y microbiológicas encargadas de la senescencia del fruto. La alta cantidad de agua disponible en la fruta hace que su vida útil sea muy corta, jugando un papel muy importante en la estabilidad<sup>11</sup>.

La figura 2 muestra el comportamiento del porcentaje de humedad para del aguacate Hass fresco y entero, a diferentes estados de madurez identificados como E1-V (verde), E2-P (pintón), E3-M (maduro).

En la figura 2 se observa la tendencia a disminuir el porcentaje de humedad a medida que el fruto aumenta su estado de madurez, puesto que el fruto de aguacate durante su proceso de maduración está basado en el metabolismo de los lípidos, con una rápida acumulación de aceite y disminución del porcentaje de humedad<sup>12</sup>.

La figura 3 muestra el comportamiento del pH del aguacate Hass fresco y entero, a diferentes estados de madurez identificados como E1-V (verde), E2-P (pintón), E3-M (maduro).

En la figura 3 el estado de madurez influyó ligeramente el pH de las muestras (6,26-6,41). Acercándose a la neutralidad.

En la figura 4 muestra el comportamiento de la acidez del aguacate Hass fresco y entero,

a diferentes estados de madurez identificados como E1-V (verde), E2-P (pintón), E3-M (maduro).

En la figura 4 este comportamiento es debido principalmente a cambios bioquímicos en el metabolismo de los lípidos, con una rápida acumulación de aceite (ácido oleico) y materia seca<sup>13</sup>; es decir, se evidencian muestras más ácidas en los estados de madurez iniciales respecto al estado de madurez en donde culminó la experiencia<sup>14</sup>.

En la figura 5 se observa el comportamiento de los grados Brix del aguacate Hass fresco y entero, a diferentes estados de madurez identificados como E1-V (verde), E2-P (pintón), E3-M (maduro).

En la figura 5 se presenta el aumento de los °Brix. El aumento progresivo de los grados Brix en el proceso de maduración se debe a que el fruto presenta menor cantidad de agua (transpiración) y mayor concentración de azúcares (respiración), originado por su carácter climatérico; el aguacate presenta una elevada tasa de producción de etileno al inicio del proceso de maduración que se asocia con una pronta madurez del fruto<sup>12</sup>.

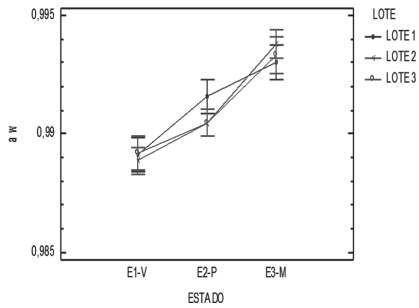
En la figura 6 se presenta la relación de los °Brix y el porcentaje de acidez del aguacate Hass fresco y entero, a diferentes estados de madurez identificados como E1-V (verde), E2-P (pintón), E3-M (maduro).

En la figura 6 se observa una estrecha relación entre los grados Brix y la acidez, los cuales son inversamente proporcionales.

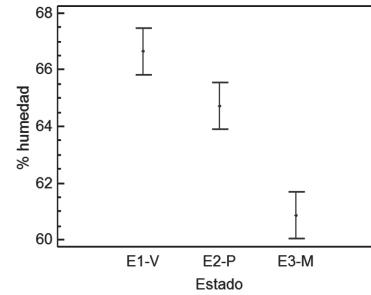
En la tabla 1 se presentan los resultados obtenidos de los parámetros  $A_w$ , % $X_{bh}$ , pH, % acidez, índice de madurez y °Brix de aguacate Hass fresco, entero y diferentes estados de madurez identificados como E1-V (verde), E2-P (pintón) y E-M3 (maduro).

Los resultados mostraron una relación de incremento proporcional al estado de madurez; para el caso del parámetro % $X_{bh}$ , se observa una disminución en su porcentaje y la  $A_w$  se

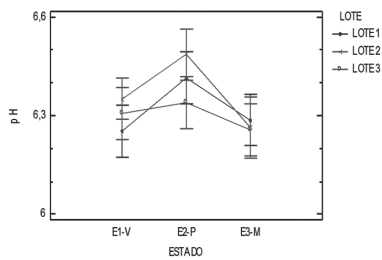




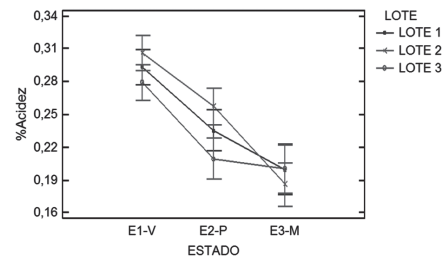
**Figura 1.  $a_w$  de aguacate Hass (Persea americana Mill) fresco y entero, a diferentes estados de madurez identificados como E1-V (Verde), E2-P (Pintón), E3-M (Maduro), con los intervalos de confianza LSD (95%)**



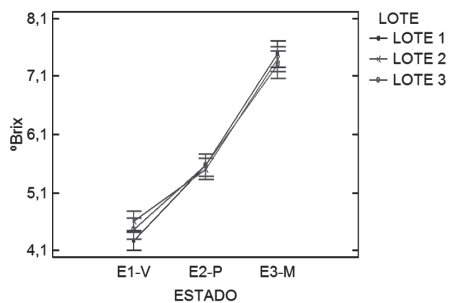
**Figura 2. Porcentaje de humedad de aguacate Hass fresco y entero, en diferentes estados de madurez identificados como E1-V (Verde), E2-P (pintón), E3-M (maduro), con los intervalos de confianza LSD (95%)**



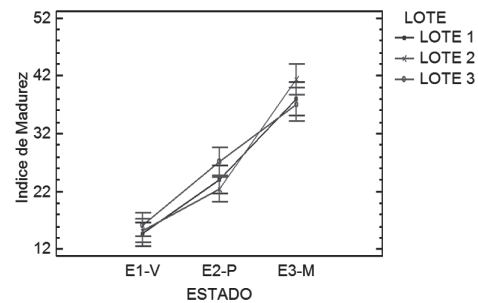
**Figura 3. pH del aguacate Hass fresco y entero, a diferentes estados de madurez identificados como E1-V (verde), E2-P (pintón), E3-M (maduro), con los intervalos de confianza LSD (95%)**



**Figura 4. Comportamiento de los °Brix del aguacate Hass fresco y entero a diferentes estados de madurez**



**Figura 5. Aumento progresivo de los °Brix en el proceso de maduración**



**Figura 6. Índice de madurez: °Brix / %acidez del aguacate Hass fresco y entero, a diferentes estados de madurez identificados como E1-V (verde), E2-P (pintón), E3-M (maduro)**

**Tabla 1. Resultados y grupos homogéneos de las características fisicoquímicas e índice de madurez de aguacate Hass en tres estados de madurez E1-V (verde), E2-P (pintón), E-3 (maduro)**

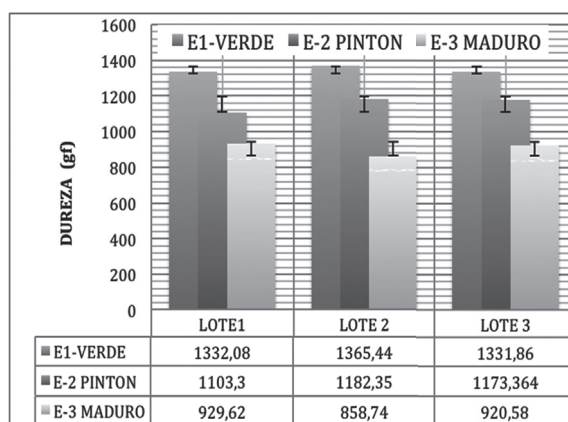
Estado	E1-V	E2-P	E3-M
%X <sub>hh</sub>	64,73±(0,52) <sub>b</sub>	63,59±(0,34) <sub>a</sub>	60,85±(0,52) <sub>c</sub>
A <sub>w</sub>	0,991±(0,002) <sub>a</sub>	0,9910±(0,002) <sub>a</sub>	0,9912±(0,002) <sub>a</sub>
pH	6,26±(0,030) <sub>a</sub>	6,30±(0,032) <sub>ab</sub>	6,41±(0,034) <sub>c</sub>
%Acidez	0,29±(0,006) <sub>a</sub>	0,23±(0,007) <sub>b</sub>	0,19±(0,008) <sub>c</sub>
° Brix	4,45±(0,06) <sub>a</sub>	5,55±(0,079) <sub>b</sub>	7,39±(0,09) <sub>c</sub>
I. de madurez	15,38±(0,83) <sub>a</sub>	24,55±(0,95) <sub>b</sub>	38,80±(1,14) <sub>c</sub>

Los subíndices diferentes en una misma fila indican diferencia significativas ( $p < 0,05$ ). Valor promedio  $\pm$  Desviación estándar SD.

mantuvo en un nivel cercano al 0.99; la madurez del fruto está basada en el metabolismo de lípidos, con una disminución del contenido de humedad<sup>15</sup> y va acompañada de la concentración de azúcares C<sub>7</sub> que revela la importancia de los azúcares solubles en los procesos de

respiración asociados con la fisiología poscosecha y madurez de fruto<sup>16</sup>.

En la figura 7 se muestran los valores de dureza expresados en gf para cada estado de madurez del aguacate Hass (*Persea americana* Mill).



**Figura 7. Evaluación textural (dureza gf) de aguacate Hass (*Persea americana* Mill) fresco y entero, en diferentes estados de madurez identificados como E1-V (Verde), E2-P (Pintón), E3-M (Maduro), con los intervalos de confianza LSD (95%)**

La variable de dureza instrumental (gf), mostró un comportamiento similar decreciente respecto al estado de madurez del producto, que muestra que efectivamente, el estado de madurez propicia un ablandamiento progresivo del exocarpio, que generan muestras más susceptibles a la deformación respecto al almace-

namiento. En ese sentido, la salida de agua y algunos componentes nativos presentes en la estructura celular, seguidos del intercambio gaseoso durante el proceso de maduración, causan modificaciones estructurales del sistema por una notoria degradación de la pared celular, que ocasiona una reducción de la firmeza

(pérdidas de resistencia mecánica) por pérdida del grado de turgencia (adhesión intercelular) que condiciona la capacidad de soporte de la cáscara, tal como se ha obtenido en otros estudios donde la acumulación de productos difunde el intercambio de fluidos en los tejidos de las células vegetales<sup>17</sup> y la pérdida de agua de la estructura se acelera<sup>18</sup>.

En la tabla 2 se presentan los resultados de los parámetros colorimétricos obtenidos L\* (indicador de la luminosidad), a\* (indicador de cromaticidad en el eje verde (-) a rojo (+)); b\* (indicador de cromaticidad en el eje azul (-) a amarillo (+)), y tono h°, medido sobre la superficie del exocarpio de aguacates frescos a diferentes estados de madurez, identificados como E1-V (verde), E2-P (pintón), E3-M (maduro) de aguacate Hass (*Persea Americana* Mill) fresco y entero con un nivel de confianza LSD de 95%.

Los resultados mostraron diferencias estadísticas significativas por efecto del estado de madurez, para todos los parámetros evaluados ( $p < 0,05$ ).

La evolución del color mostró una cinética de degradación paulatina para todos los parámetros evaluados, con descensos bastante pronunciados para el caso de la luminosidad L\* y la cromaticidad b\* como variables de mayor influencia sobre la calidad externa de los frutos de aguacate durante su proceso de maduración, mostrando un comportamiento decreciente en la claridad, verdocidad y amarillamiento desde E1-V hasta E3-M, marcado por una meseta en el punto final, que ratifica una pérdida de propiedades de color bastante acentuadas

y es corroborado por el comportamiento del parámetro de tono h°, que posicionó el estado de las muestras hacia tonalidades del cuadro cromático verde-amarillosas (leve) y opacas (oscuridad leve).

Esta situación es atribuida principalmente a la alta actividad bioquímica de las muestras y principalmente al fenómeno de pardeamiento enzimático ocurrido en la capa superficial del producto, pardeamiento que se presenta, de manera similar, en la superficie del mesocarpio de manzanas y peras, en las cuales se evidenciaron coloraciones anaranjadas, que pudieron haberse producido por transformaciones de los pigmentos de los grupos flavonoides<sup>19</sup>.

### Análisis bromatológico

En la tabla 3 se presentan los valores del porcentaje de proteína y grasa, para el estado de madurez E3-M (maduro) que presenta las mejores características fisicoquímicas para la extracción de aceite de aguacate. Se presenta el contenido de proteína y grasa para el estado de madurez E3-M (maduro), datos similares a lo reportado por Muñoz en el 1996 en el cual se registraron valores de proteína de 1.143 % y de grasa de 19.25%, que son las condiciones más apropiadas para realizar las extracciones del aceite.

### Análisis de extracción enzimática

En la figura 8 se determina experimentalmente la actividad enzimática de los complejos enzimáticos puros respecto al sustrato.

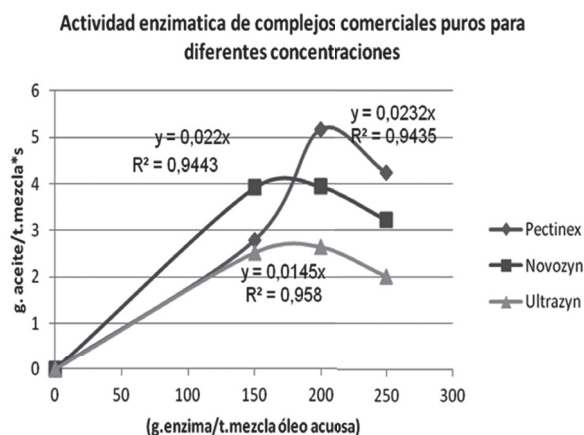
**Tabla 2. Resultados y grupos homogéneos de la evolución del color de aguacate Hass (*Persea americana* Mill) en tres estados de madurez E1-V (verde), E2-P (pintón), E-3 (maduro)**

Estado	E1-V	E2-P	E3-M
L*	36,98±(0,22) <sup>a</sup>	34,16±(0,17) <sup>b</sup>	33,20±(0,18) <sup>c</sup>
a*	6,21±(0,14) <sup>a</sup>	5,77±(0,11) <sup>b</sup>	5,74±(0,2) <sup>c</sup>
b*	6,46±(0,24) <sup>a</sup>	4,77±(0,19) <sup>b</sup>	4,15±(0,20) <sup>c</sup>
h°	37,0718±(0,22) <sup>a</sup>	34,2644±(0,18) <sup>b</sup>	33,53±(0,19) <sup>c</sup>



**Tabla 3. Contenido de proteína y grasa de aguacate Hass (Persea american Mill) para el estado de madurez E3-M (maduro)**

Estado	%Proteína	%Grasa
E3 - M	1,4±(0,27)	22,43±(1,12)



**Figura 8. Determinación experimental de la actividad enzimática de los complejos enzimáticos puros respecto al sustrato**

En la figura 8, se determinó la ecuación de la recta tangente a la curva generada de los datos de concentración de aceite de aguacate producido, respecto a la concentración de la enzima en un tiempo de 2 h. La ecuación tiene la forma:  $y = mx + b$

Donde:

$$b = 0$$

$x$  = concentración enzimática.

$m$  = pendiente de la recta = actividad enzimática.

De la gráfica anterior, la pendiente de la recta corresponde a la actividad enzimática de cada una de las enzimas, determinada empíricamente como se muestra en la tabla 4.

La tabla 4 muestra las actividades enzimáticas de los diferentes complejos enzimáticos evaluados; pero al compararla con resultados obtenidos con otras investigaciones los valores se encuentran alejados, (0,076 g. aceite/t. mezcla\*s) para enzima de actividad pectolítica (Pectinex) y con (0,034 g. aceite/t. enzima\*s) para enzima hemicelulítica (Novozym)<sup>20</sup>. Lo

anterior es atribuible a que la cantidad recomendada por la ficha técnica no promueve el deterioro de las paredes celulares del aguacate y, por ende, la liberación del aceite contenido en ellas; otra posibilidad a la que pueden atribuirse estos resultados es que las centrifugaciones son realizadas a temperatura ambiente, lo que puede dificultar la separación de las fases y, por ende, la retención del aceite dentro de la matriz alimentaria, disminuyendo así los rendimientos de extracción. Por tal motivo se recomienda centrifugar en frío.

En la tabla 5 se presentan los valores de producción de aceite en mililitros por tonelada de mezcla, en un segundo, de aguacate Hass (*Persea americana* Mill) para el estado de madurez identificado como E3-M (maduro).

Además, se presentan los valores medios de la producción de aceite de cada uno de los complejos enzimáticos comerciales; se encuentra diferencia significativa estadística entre la enzima Ultrazym y las otras dos utilizadas, para un tiempo de incubación de 2 horas.

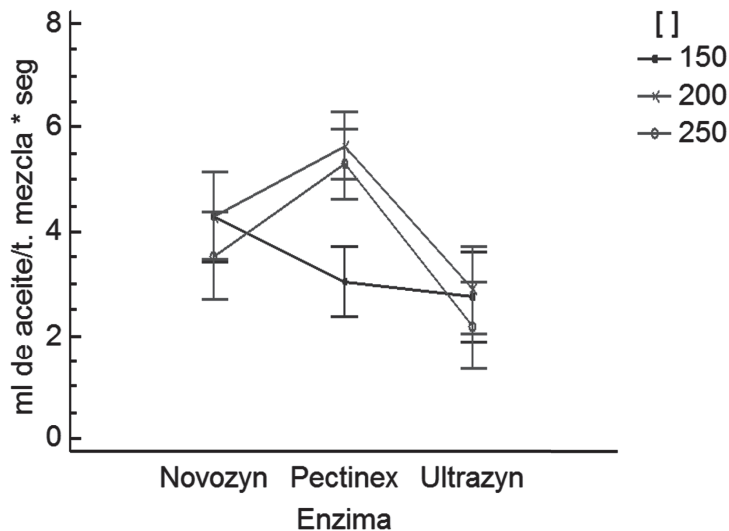
**Tabla 4. Actividad enzimática para cada uno de los complejos enzimáticos puros empleados**

Enzima	Actividad enzimática (g. de aceite/t. mezcla*s)
Pectinex	0,0233
Novozym	0,0221
Ultrazym	0,0145

**Tabla 5. Valores de producción de aceite en mililitros por tonelada de mezcla en un segundo de aguacate Hass (*Persea americana* Mill) para el estado de madurez identificado como E3-M (maduro)**

Enzima	Volumen en mL de extracción de aceite por tonelada de mezcla en un segundo de proceso
Pectinex	4,660 ± (1,64) <sup>a</sup>
Novozym	4,038 ± (0,64) <sup>a</sup>
Ultrazym	2,610 ± (0,77) <sup>b</sup>

Los superíndices diferentes en una misma columna indican diferencia significativas ( $p < 0,05$ ). Valor promedio ± Desviación estándar SD.



**Figura 9. Volumen extraído de aceite (ml de aceite/t. Mezcla\*s) de aguacate Hass (*Persea americana* Mill) en estado de madurez E3-M (maduro), con tres complejos enzimáticos, en tres niveles de concentración e intervalos de confianza LDS (95%)**

En la figura 9 se presentan los resultados de los mililitros obtenidos por tonelada de mezcla en un segundo de proceso, para el estado de madurez E3-M en cada una de las concentraciones de los complejos enzimáticos comerciales (mL de enzima/tonelada de mezcla). Los resultados arrojaron diferencias estadísticas significativas por efecto de la aplicación de un tipo de enzima, pero no por la concentración de enzima aplicada para los parámetros evaluados ( $P < 0,05$ ). Este comportamiento es similar a lo reportado por Acosta<sup>20</sup>, situación que es atribuida principalmente a la actividad enzimática reportada de cada uno de los complejos (fichas técnicas) empleados para la extracción de aceite, ya que se garantizaron las mismas condiciones ambientales para todas las reacciones de hidrólisis en donde se mantuvieron constantes la temperatura: 45°C, pH: 5,0 +/- 0,2; agitación y tiempo de reacción: 2 horas, en una mezcla homogénea aguacate: agua en una proporción de 1:3 para todos los ensayos realizados; condiciones establecidas de acuerdo con las fichas técnicas de cada uno de los complejos enzimáticos y bibliografía consultada.

Los resultados mostraron que la mayor producción de aceite se logró con los complejos enzimáticos Pectinex y Novozym que presentan los mejores rendimientos de aceite en las tres concentraciones evaluadas (150, 200 y 250 mL de enzima/ t.mezcla) con valor promedio de 4,66 y 4,03 mL de aceite/ t. de mezcla\*s., respectivamente, en comparación con las enzima ultrazym que solo alcanza un rendimiento de 2,61 mL de aceite/ t. de mezcla\*s; estas diferencias han de ser atribuidas al mecanismo de acción de cada enzima y esta, a su vez, con el proceso de maduración de fruto.

Lo anterior se basa en que el proceso de maduración del aguacate está marcado por una variedad de cambios bioquímicos<sup>13</sup>. La madurez de los frutos está fundamentada en el metabolismo de lípidos, con una rápida acumulación de aceite y de materia seca<sup>15</sup> a lo largo y ancho del mesocarpio (pulpa), siguiendo un gradiente creciente de contenido de aceite hacia el interior del fruto y las gotas de aceite se localizan en el interior de los idioblastos<sup>9</sup>.

Este proceso se encuentra marcado por el ablandamiento y el desarrollo de los compo-

ponentes de sabor<sup>13</sup> que es causado por la enzima celulolasa que degrada la celulosa de la pared celular y ocasiona el reblandecimiento, enzima que es sintetizada al inicio del climaterio, muestra gran actividad durante este y es activada por el etileno e inhibida por el oxígeno. El proceso de extracción de aceite fue realizado en condiciones ambientales en aerobiosis con agitación constante (200 rpm/min), movimiento que pudo incorporar pequeñas cantidades de oxígeno a la solución oleoacuosa, razón por la cual la enzima (Ultrazym) con compuesto áctico poligalacturonasa-celulasa presentó menores rendimientos a lo largo del proceso de hidrólisis bajo las condiciones evaluadas.

Pero, para el caso de los otros dos complejos enzimáticos puros empleados, el efecto de degradación de las micro fibrillas de la celulosa propicia la destrucción de la matriz (pericarpio del aguacate) y la exposición de pectatos y otros polímeros cementantes de la pared celular que son susceptibles a la acción de pectinasas y poligalacturonasas. Lo anterior, de acuerdo a la actividad declarada por la ficha técnica de las otras dos enzimas Pectinex y Novozym empleadas en el experimento, lo que incrementó la producción de aceite por tonelada de mezcla en un segundo de proceso comparado con los valores obtenidos con la enzima Ultrazym; por tal motivo se recomienda descartar la enzima Ultrazym ya que presenta los menores rendimientos de extracción de aceite por tonelada de mezcla<sup>21</sup>.

Para el caso de la enzima Novozym y Ultrazym es independiente la concentración de enzima que emplee para realizar la extracción, pero en el caso puntual de la enzima Pectinex, especialmente en la concentración de 150 mL de enzima /t mezcla, si presenta estadísticamente diferencia entre las concentraciones enzimáticas empleadas para la extracción; además, también se muestra claramente que los mayores resultados en las tres enzimas se alcanzaron con la concentración de 200 mL de enzima /t. mezcla. Por tal motivo se recomienda trabajar con esta concentración (figura 9).

En el caso de la concentración máxima aplicada 250 mL de enzima /t mezcla, se muestra un comportamiento decreciente en todas la enzimas; este comportamiento se le puede atribuir a que existe una inhibición por mucha concen-

tración de enzima y poco sustrato, lo que podría presentar un desaprovechamiento de esta materia prima.

En la tabla 6 se presentan los valores del porcentaje de extracción que se calcularon por medio de la ecuación número (2).

Los resultados de la tabla 6 corroboran que las enzimas Pectinex y Novozym, presentaron mayor volumen de extracción (4,660 y 4,038); por lo tanto, presentan las mejores actividades enzimáticas (0,0233 y 0,0221 g de aceite/t.

mezcla\*s.) y, por ende, los mejores rendimientos de extracción de aceite (66,47 y 50,67%), respectivamente para cada uno de las condiciones evaluadas. Comparados con la enzima Ultrazym que fue inhibida por la presencia de oxígeno a lo largo del tratamiento, presenta los menores rendimientos de extracción de aceite (33,97%). Por otro lado, cabe resaltar que la aplicación enzimática de 200 mL de enzima /t. Mezcla es la concentración que mejor se comporta en la matriz alimentaria en evaluación, guardando la relación adecuada enzima-sustrato, que le permite actuar de una manera adecuada.

**Tabla 6. Rendimientos de extracción enzimática para cada tipo (Pectinex, Novozym y Ultrazym) y concentración de enzima (150, 200 y 250 ml de enzima por tonelada de mezcla), en un tiempo de hidrólisis correspondiente de 2 horas, para aguacate Hass (*Persea americana* Mill) en un estado de madurez E3-M (maduro)**

Enzima	% Rendimiento de extracción		
	150 mL/t mezcla	200 mL/t mezcla	250 mL/t mezcla
Pectinex	35,92%±(10,66)	66,47%±(8,51)	62,31%±(21,10)
Novozym	50,44%±(2,79)	50,67±(8,89)	41,58%±(8,11)
Ultrazym	32,38±(1,70)	33,97±(12,10)	25,90±(11,34)

## Conclusiones

La caracterización fisicoquímica del aguacate Hass (*Persea americana* Mill) procedente del oriente antioqueño mostro que existe una disminución del contenido de agua en la medida que el estado de madurez aumenta. Para el estado E3-M (maduro), se determinó que contiene un 1.4% de proteína, 22,43% grasa, 60,85% humedad,  $A_w=0,99$ , pH=6,41, % acidez 0,19 y °Brix = 7,39.

La actividad enzimática determinada para la hidrólisis del material vegetal muestra que las enzimas pectinex y novozym presentan el mayor desempeño y generan los mejores rendimientos (alrededor del 60%) de extracción de aceite de aguacate Hass (*Persea americana* Mill) comparados con el otro complejo enzimático (Ultrazym).

La mejor concentración de aplicación de la enzima es la de 200 mL de enzima/t. mezcla, en

la cual se encuentra una relación experimental adecuada entre el complejo enzimático y la concentración de sustrato presente, lo que permite que la enzima actúe degradando las cadenas de ácido galacturónico y liberando el aceite contenido en los ideoblastos del mesocarpio del aguacate Hass (*Persea americana* Mill), bajo las condiciones experimentales evaluadas en de este estudio.

## Agradecimiento

Los autores expresan su agradecimiento a la fundación INTAL por su aporte y colaboración. A los profesores Lina María Vélez, Gustavo Adolfo Hincapié y Juan Camilo Oviedo por sus orientaciones académicas. Al Director de la Facultad de Ingeniería Agroindustrial, Juan Carlos Palacio Piedrahíta, por su gestión administrativa.

## Referencias bibliográficas

1. BERGH, B. Nutritious value of avocado. California :Avocado Society Book. 1992. p. 123–135.
2. RATOVOHERY, J. y LOZANO, Y. Fruit development effect on fatty acid composition of *Persea americana* fruit mesocarp. En: J Agric Food Chem. 1988. Vol. 36, N° 2, p. 287-293
3. ISEO. Food fat and oils. 8<sup>th</sup> edition. New York: Institute of shortening - Edible Oils, Inc. 1999. p 40.
4. GURR, M. Dietary lipids and coronary heart disease. Old evidence, new perspective. En: Progress in Lipid Research, 1992. Vol. 31, N° 3 p. 195-243.
5. HORVILLEUR, L. El mercado del aceite de Oliva en Colombia. Bogotá: Oficina Económica y Comercial de la Embajada de España en Bogotá, 2008.
6. PATIÑO, D. y LARGO, V. Formulación de un plan de negocios para la exportación de aceite de aguacate. Pereira-Colombia: Universidad Tecnológica de Pereira, 2010.
7. Ortiz, A., *et al.* Effect of different extraction methods on fatty acids, volatile compounds, and physical and chemical properties of avocado (*Persea americana* Mill) oil. En: Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2003. P. 2216-222.
8. ABBEY, M. & Nestel, P. Plasma cholesteryl ester transfer protein activity is increased when trans-elaidic acid is substituted for cis-oleic acid in the diet. En: Atherosclerosis. 1994. p. 99-107
9. BARRIENTOS, A.; GARCÍA, E. y AVITIA, E. Anatomía del fruto de aguacate, ¿Drupa o baya?. En: Revista Chapingo Serie Horticultura. 1996. p 189-198.
10. GÓMEZ, V. Fruit characterization of Venezuelan avocado varieties of medium oil content. En: Scientia Agricola. 2000. Vol. 57, N° 4. p. 791-794.
11. LEWIS, M. J. Propiedades Físicas de los Alimentos y de los Sistemas de Procesado. España: Editorial Acribia Zaragoza, 1993.
12. MAZLIAK, P. Constitution Lipidiques de l "avocat. En: Fruit. 1971. P. 615-623.
13. SEYMOR, G. y TUCKER, G. A. Avocado. In: Seymour G.B., Tayler, J Trucker, G.A. (Eds). Biochemistry of fruit ripening. Chapman and Hall, 1993. p 53-81.
14. DALLMAN, T.; *et al.* Postharvest density changes in membranes from ripening avocado fruits. En: J. Amer. Hort. Sci. 1988. p 729-733.
15. KIKUTA, Y. & Erickson, L. Seasonal changes of avocado lipids Turing fruit development and storage. En: Calif Avocado Soc Yearb 1968. p. 102-108.
16. LIU, X.; *et al.* 'Hass' avocado carbohydrate fluctuations. II. Fruit growth and ripening. En: J. Amer. Soc. Hort. Sci. 1999. p. 124, 676-681
17. GEMMA, O; *et al.* Recent approaches chemical treatments preserve quality of fresh cut fruit: a review. En: Postharvest Biology and Technology. September 2010. Vol. 57, N° 3, p. 139–148
18. SAPER, G. & MILLER, R. Browing inhibition in fresh – cut pears. En: Journal of food Science. 1998. Vol. 63, p. 342 – 436.
19. MAYER, A. & Harel, E. Phenolodidases and their significance in fruits and vegetables. En: Food Enzymology. 1991. p. 373 -398.
20. ACOSTA, M. Evaluación y escalamiento del proceso de extracción de aceite de aguacate utilizando tratamiento enzimático. Bogotá – Colombia: Universidad Nacional de Colombia, 2011.
21. KANELIS, A.; SOLOMOS, T. y ROUBELAKIS, K. Seppression of cellulase and polygalacturonase and induction of alcohol dehydrogenase isoenzymes in avocado fruit mesocarp subjected to low oxygen stress. En: Physiol. Plant. 1991. p. 96, 269-274.