

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO
ESCUELA DE POSGRADO
MAESTRÍA EN AGRICULTURA ANDINA



TESIS

**PROPIEDADES FUNCIONALES Y ESTABILIDAD DEL ACEITE DE
PALTA (*Persea americana Mill*) VARIEDAD HASS EXTRAÍDO
MEDIANTE DIÓXIDO DE CARBONO SUPERCRÍTICO**

PRESENTADA POR:

ROMUALDO VILCA CURO

PARA OPTAR EL GRADO ACADÉMICO DE:

MAGISTER SCIENTIAE EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

PUNO, PERÚ

2018

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO

ESCUELA DE POSGRADO

MAESTRIA EN AGRICULTURA ANDINA



TESIS

PROPIEDADES FUNCIONALES Y ESTABILIDAD DEL ACEITE DE
PALTA (*Persea americana Mill*) VARIEDAD HASS EXTRAÍDO
MEDIANTE DIÓXIDO DE CARBONO SUPERCRÍTICO

PRESENTADA POR:

ROMUALDO VILCA CURO

PARA OPTAR EL GRADO ACADÉMICO DE:

MAGISTER SCIENTIAE EN CIENCIA Y TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

APROBADA POR EL SIGUIENTE JURADO:

PRESIDENTE

Dr. ALEJANDRO COLOMA PAXI

PRIMER MIEMBRO

M.Sc. PABLO PARI HUARCAYA

SEGUNDO MIEMBRO

M.Sc. ROSARIO EDELEY ORTEGA BARRIGA

ASESOR DE TESIS

Ph.D. JUAN MARCOS ARO ARO

Puno, 20 de noviembre de 2018

ÁREA: Ciencia y tecnología de alimentos.

TEMA: Cultivos alimenticios.

LÍNEA: Industrialización de frutos alimenticios.

DEDICATORIA

Dedicado a la memoria de mi padre Aurelio Vilca Núñez. A mi madre Simona Cuero Mamani, a mis hermanos Adrián, Ana Flavia y Marleny

A DIOS, por la fortaleza y la fe que me ha dado siempre.

AGRADECIMIENTOS

Expreso mi sincero agradecimiento a todas aquellas personas e instituciones que directa o indirectamente han colaborado en la ejecución de esta tesis y en especial:

- A la Escuela de Posgrado de la Universidad Nacional del Altiplano, al personal docente y administrativo.
- A la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Nacional de Moquegua, por el apoyo en el uso de los materiales, equipos e instalaciones del laboratorio de ingeniería de procesos.
- Al PhD. Luis Alberto Condezo Hoyos por confiar en mi persona, por su asesoramiento, enseñanzas y por guiarme en el mundo de la investigación.
- Al PhD. Juan Marcos Aro Aro, por su asesoramiento con sus conocimientos y experiencias.
- Quiero expresar mi agradecimiento de manera especial al Ing. MSc. Mario Roger Cotacallapa Sucapuca por su permanente apoyo.
- A la Dra. Clara Raquel Espinoza Silva de la Universidad Nacional del Centro del Perú, por su valioso apoyo.
- A los evaluadores del presente proyecto de tesis.

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
DEDICATORIA	i
AGRADECIMIENTOS	ii
ÍNDICE GENERAL	iii
ÍNDICE DE CUADROS	vi
ÍNDICE DE FIGURAS	vii
ÍNDICE DE ANEXOS	viii
RESUMEN	ix
ABSTRACT	x
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I	2
1.1. FORMULACION DEL PROBLEMA	2
1.2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	3
1.2.1. Problema general	3
1.2.2. Problema específico	3
CAPÍTULO II	4
2.1. PALTA	4
2.1.1. DESCRIPCIÓN	4
2.1.2. COMPOSICIÓN QUIMICA	5
2.1.3. MADURACION POSTCOSECHA DE LA PALTA	6
2.1.4. PALTA VARIEDAD HASS.	8
2.2. ACEITE DE PALTA.	9
2.2.1. CARACTERÍSTICAS.	9
2.2.2. EXTRACCIÓN	10
2.2.3. ESTABILIDAD OXIDATIVA	11
2.3. ALIMENTOS FUNCIONALES	13
2.3.1. DEFINICIÓN	13
2.3.2. COMPUESTOS BIOACTIVOS	13
2.3.3. CAPACIDAD ANTIOXIDANTE	17
2.3.4. PROPIEDADES FUNCIONALES DE LA PALTA	18
2.4. EXTRACCIÓN POR FLUIDOS SUPERCRÍTICOS (SPE)	20
2.4.1. FLUIDOS SUPERCRÍTICOS	20
	iii

2.4.2.	EXTRACCIÓN CON FLUIDOS SUPERCRÍTICOS	21
2.4.3.	CO ₂ COMO UN FLUIDO SUPERCRITICO	21
2.4.4.	EXTRACCIÓN DE ACEITE MEDIANTE DIÓXIDO DE CARBONO	22
CAPÍTULO III		23
3.1.	LUGAR DE EJECUCIÓN	23
3.2.	MATERIA PRIMA.	24
3.3.	MATERIALES Y EQUIPOS.	24
3.3.1.	Materiales.	24
3.3.2.	Reactivos.	25
3.3.3.	Equipos.	25
3.4.	MÉTODO DE INVESTIGACIÓN	26
3.4.1.	Procedimiento de obtención de aceite de palta	26
3.5.	METODO DE ANALISIS	30
3.5.1.	Determinación de madurez de la palta	30
3.5.2.	Determinación de rendimiento total de aceite	30
3.5.3.	Determinación de color de aceite	31
3.5.4.	Determinación de compuestos fenólicos totales	31
3.5.5.	Determinación de contenido de carotenoides y clorofila	32
3.5.6.	Determinación de contenido de capacidad antioxidante	33
3.5.7.	Determinación de estabilidad del aceite de palta	33
3.6.	MÉTODO DE ANÁLISIS ESTADÍSTICO.	34
CAPÍTULO IV		36
4.1.	MADUREZ DE PALTA	36
4.2.	EXTRACCIÓN DE ACEITE DE PALTA VARIEDAD HASS MEDIANTE DIOXIDO DE CARBONO SUPERCRÍTICO	37
4.2.1.	PARAMETROS DE COLOR DEL ACEITE DE PALTA	40
4.3.	PROPIEDADES FUNCIONALES DEL ACEITE DE PALTA	43
4.3.1.	Compuestos fenólicos totales	43
4.3.2.	Carotenoides	45
4.3.3.	Clorofila-a	46
4.3.4.	Capacidad antioxidante.	48
4.4.	ESTABILIDAD DEL ACEITE DE PALTA.	50
CONCLUSIONES		54
RECOMENDACIONES		55



BIBLIOGRAFIA

56

ANEXOS

68

ÍNDICE DE CUADROS

	Pág.
1. Valor nutricional de la palta por 100g de porción comestible.	5
2. Composición de ácidos grasos de aceite de aguacate Hass de cinco países.	10
3. Parámetros de cinética de secado de palta Hass.	37
4. Rendimiento en la extracción de aceite de palta variedad Hass.	39
5. Parámetros del modelo sigmoidal de extracción de CO ₂ supercrítica de aceite de palta Hass.	40
6. Parametros de color del aceite de palta variedad Hass.	42
7. Prueba de comparacion de TUKEY para diferencia de color (ΔE).	43
8. Prueba de comparacion de TUKEY para compuestos fenolicos.	44
9. Prueba de comparacion de TUKEY para carotenoides totales.	46
10. Prueba de comparacion de TUKEY para clorofila-a.	48
11. Prueba de comparacion de TUKEY para capacidad antioxidante.	50
12. Periodo de inducción (IP) en prueba de estabilidad de aceite de palta	50

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
1. Proceso de obtención de aceite de palta variedad Hass mediante dióxido de carbono supercrítico.	29
2. Cinética de secado mediante modelo matemático de Peleg.	36
3. Curva de extracción de aceite de palta Hass.	39
4. Diferencia de color (ΔE) de aceite de palta variedad Hass y muestra control.	42
5. Fenólicos totales de aceite de palta variedad Hass y muestra control.	44
6. Carotenoide en aceite de palta variedad Hass y muestra control.	45
7. Clorofila en aceite de palta variedad Hass y muestra control.	47
8. Capacidad antioxidante en aceite de palta variedad Hass y muestra control.	49
9. Periodo de inducción (IP) de prueba de estabilidad de aceite de palta.	51
10. Estabilidad de aceite de palta.	52

ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág
1. Madurez de palta variedad Hass	69
2. Obtención de aceite de palta variedad Hass	70
3. Extracción de aceite de palta variedad Hass	71
4. Curva de calibración para fenólicos totales	77
5. Curva de calibración para capacidad antioxidante método ABTS	78
6. Características de prueba de estabilidad en sistema OXITEST	79
7. Temperatura de prueba de estabilidad de aceite de palta	80
8. Presión del oxígeno de prueba de estabilidad de aceite de palta	83
9. Análisis de varianza para proceso experimenta	86

RESUMEN

El aceite de palta contiene compuestos bioactivos beneficiosos para la salud del consumidor, la cantidad de estos compuestos y su estabilidad oxidativa puede ser modificada por la técnica de extracción del aceite. En este estudio se evaluó las propiedades funcionales y la estabilidad del aceite de palta variedad Hass extraído mediante dióxido de carbono supercrítico (SFE). El grado de madurez de la palta se determinó mediante el contenido de materia seca. La extracción del aceite se realizó mediante SFE a 400bar a 40° y 80°C evaluándose el rendimiento del proceso. En el aceite de palta extraída se determinó el color, el contenido de compuestos fenólicos totales, carotenoides totales, clorofila-a y la actividad antioxidante mediante ABTS⁰⁺ (2,2'-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid). La estabilidad del aceite de palta se determinó mediante prueba aceleradas usando el sistema no invasivo OXITEST. Los resultados revelan que la palta madura tiene un promedio de humedad de 70.1±2%, el rendimiento del proceso SFE es mayor (39.07%) a 400 bar y 40°C. El aceite extraído a 400 bar y 80°C posee mejores propiedades funcionales (75.4±2.4 mg GAE/Kg, 24.8±1.6 mg caroteno/Kg, 55.5±5.5 mg clorofila-a/Kg, 171.6±6.4 μmol TE/100g) y estabilidad con periodo de inducción de 9.35 horas.

Palabras claves: Aceite de palta, compuestos fenólicos, capacidad antioxidante, carotenoides, clorofila y extracción con fluidos supercríticos.

ABSTRACT

Avocado oil contains bioactive compounds beneficial to consumer health, the amount of these compounds and their oxidative stability can be modified by the oil extraction technique. In this study, the functional properties and stability of Hass avocado oil extracted by supercritical carbon dioxide (SFE) were evaluated. The degree of maturity of the avocado was determined by the dry matter content. The extraction of the oil was carried out by means of SFE at 400bar at 40 ° and 80 ° C, evaluating the performance of the process. In the extracted avocado oil the color, the content of total phenolic compounds, total carotenoids, chlorophyll-a and the antioxidant activity were determined by ABTS⁰⁺(2,2'-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) . The stability of the avocado oil was determined by accelerated testing using the non-invasive OXITEST system. The results reveal that the mature avocado has an average humidity of 70.1 ± 2%, the yield of the SFE process is higher (39.07%) at 400 bar and 40 ° C. The oil extracted at 400 bar and 80 ° C has better functional properties (75.4 ± 2.4 mg GAE / Kg, 24.8 ± 1.6 mg total carotene / Kg, 55.5 ± 5.5 mg chlorophyll-a / Kg, 171.6 ± 6.4 μmol TE / 100g) and stability with an induction period of 9.35 hours.

Keywords: Antioxidant capacity, avocado, carotenoids, chlorophyll, extraction with supercritical fluids, oil, phenolic compounds.

INTRODUCCIÓN

La elección de los lípidos comestibles durante estos últimos años, se ha convertido en un aspecto importante para el consumidor, quien está tratando de dirigir sus hábitos alimenticios hacia un estilo de vida más saludable. Es por eso que aceites vegetales, particularmente aquellos ricos en ácido graso monoinsaturado de conocidos beneficios para la salud, como el aceite de palta, han experimentado un aumento progresivo en la demanda.

En los últimos años en varios lugares del mundo se ha observado un aumento en el cultivo de la palta, materia prima rica en compuestos funcionales como los polifenoles, carotenoides, clorofila, capacidad antioxidante y otros, por lo cual la extracción y producción de su aceite puede considerarse como una opción, tomando en consideración la técnica de extracción para reducir la pérdida de dichos compuestos. La palta es una alternativa atractiva para el industrial por su alto contenido de aceite en la pulpa, la cual no sólo permite obtener un alimento saludable para el consumidor, sino que también debido a las propiedades. Por lo que, es de gran uso en la elaboración de determinados productos farmacéuticos, cosméticos, medicinales y otros. La extracción del aceite de palta se estudia desde hace varios años y son numerosos los trabajos que se refieren a sistemas de extracción y análisis fisicoquímico del producto. El objetivo del presente trabajo fue, evaluar las propiedades funcionales y la estabilidad del aceite de palta variedad Hass extraído mediante dióxido de carbono supercrítico. Se estudió la madurez de la palta, extracción de aceite mediante CO₂, color del aceite, fenoles totales, carotenoides totales, clorofila-a, actividad antioxidante y estabilidad del aceite.

CAPÍTULO I

PROBLEMÁTICA DE INVESTIGACIÓN

1.1. FORMULACION DEL PROBLEMA

La palta conocida en muchas regiones del mundo como aguacate; posee mayor contenido de aceite en relación a las demás frutas, y se ha convertido en un producto alimenticio atractivo para los consumidores quienes están tratando de dirigir sus hábitos de consumo hacia un estilo de vida saludable, y esta demanda es aprovechada por la industria alimentaria, farmacéutica y otros. La técnica de extracción de aceite de palta es de preocupación para la industria, por el rendimiento y preservación de las características de físicas, químicas, compuestos bioactivos como los tocoferoles, antioxidantes y otros. La extracción de aceite de palta ha sido realizada mediante diferentes procesos como el uso de disolventes, hidrolisis alcalina, presión y centrifugación, los cuales presentan problemas de bajos rendimientos, contaminación ambiental y/o preservación de compuestos bioactivos debido a la temperatura y la característica de proceso. Recientemente se ha realizado la extracción de aceite de palta mediante fluidos supercríticos con buenos rendimientos, pero se tiene

muy poca información sobre el estudio del efecto de este tipo de tecnología sobre el contenido de compuestos activos y la estabilidad del aceite extraído. En el presente trabajo de investigación se pretende mejorar el rendimiento, preservación de los compuestos bioactivos y estabilidad del aceite de palta variedad Hass, mediante la aplicación de tecnologías emergentes y de bajo impacto ambiental.

1.2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.2.1. Problema general

¿En qué medida la extracción de aceite de palta variedad Hass mediante dióxido de carbono supercrítico influye en sus propiedades funcionales y estabilidad?

1.2.2. Problema específico

- ¿Cómo es la cinética de madurez de la palta variedad Hass en relación al porcentaje de humedad?
- ¿Cuál es el rendimiento global de extracción y el color del aceite de palta variedad Hass, extraído mediante dióxido de carbono supercrítico?.
- ¿Cuáles son las propiedades funcionales medidas en término de compuestos fenólicos totales, carotenoides totales, clorofila-a y actividad antioxidante del aceite de palta variedad Hass, extraído mediante dióxido de carbono supercrítico?
- ¿Cómo es la estabilidad del aceite de palta variedad Hass, extraído mediante dióxido de carbono supercrítico?

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. PALTA

2.1.1. DESCRIPCIÓN

Según USDA (2017) la clasificación botánica de la palta es la siguiente:

Reino: Plantae

Sub división: Spermatophyta

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Sub Clase: Magnoliidae

Orden: Laurales

Familia: Lauraceae

Género: *Persea Mill*

Especie: *Persea americana Mill*

Nombre común: Palta, avocado.

2.1.2. COMPOSICIÓN QUÍMICA

La palta es reconocida generalmente como fuente de proteínas y lípidos; la pulpa contiene varios componentes bioactivos fitoquímicos incluyendo carotenoides, vitaminas B, vitaminas C y E, D Manoheptulosa, β -sitosterol y persenona A y B. Estos constituyentes tienen demostrado in vitro actividades antifúngicas, antitumorales y antioxidantes (Lu *et al.*, 2005).

Cuadro 1. Valor nutricional de la palta por 100g de porción comestible.

NUTRIENTES	CANTIDAD
Energía	131.0 kcal
Agua	79.2 g
Proteína	1.7 g
Grasa total	12.5 g
Carbohidratos totales	5.6 g
Carbohidratos disponibles	0.0g
Fibra cruda	5.8 g
Fibra dietaría	6.7g
Ceniza	1 g
Calcio	30 mg
Fosforo	67 mg
Zinc	0.64 mg
Hierro	0.6 mg
Retinol	7 μ g
Vitamina A equivalentes totales	7 μ g
Tiamina	0.03 μ g
Riboflavina	0.10 μ g
Niacina	1.82 μ g
Vitamina C	6.80 μ g

Fuente: MINSA (2009).

La pulpa de palta también tiene efectos inhibidores del crecimiento in vitro contra el cáncer y es conocido por sus propiedades beneficiosas para la piel; la fracción insaponificable de la pulpa de palta y con la combinación

con aceite de soja insaponificable y la investigación muestra sus efectos anti-carcinógenos y anti-inflamatorios; la cáscara del palta y la semilla contienen grandes cantidades de compuestos fenólicos y muestran una mayor actividad antioxidante que la pulpa de palta (Astudillo-Ordoñez & Rodríguez, 2018).

2.1.3. MADURACION POSTCOSECHA DE LA PALTA

La palta no madura mientras está unido al árbol, una vez retirado del árbol, la maduración de la fruta generalmente toma 6-10 días. La maduración de la fruta es influida por el tipo de cultivo y otros factores externos como el tiempo de almacenamiento, temperatura y exposición al etileno. Por lo tanto, la maduración puede ser tan corta como 3 - 4 días o hasta 18-21 días, y para acelerar la maduración se realiza el tratamiento con etileno. Durante la maduración, la estructura de la pulpa se degrada por cambios en el contenido de pectina en las paredes del parénquima, las células se solubilizan, haciendo que la textura del fruto se torne suave (Defilippi *et al.*, 2015). Este constituye el cambio más característico de la maduración es el ablandamiento que refleja, cambios en la composición y estructura de las paredes y membranas celulares. Las pectinas son removidas de las matrices de las paredes hasta que la laminilla media desaparece después del climatérico; el retículo endoplasmático, hinchado y vesiculado, y los ribosomas se funden con la membrana protoplásmica, para participar en síntesis de enzimas (Gil, 2001; Jara, 2007).

El tiempo de maduración depende de la variedad, a 15°C el climatérico se inicia a los 7 días para la variedad fuerte y 13 días para la variedad Hass,

después de la cosecha, si la temperatura es a 25°C o más, la maduración no es normal, pues el ablandamiento es demasiado rápido, se desarrollan sabores y colores extraños y se descompone por presencia de hongos. Para el cultivo Hass, los cambios en el ablandamiento son acompañados por cambios de color de piel de verde a negro / púrpura (Cox *et al.*, 2004). Para la mayoría de otros cultivares ("pieles verdes"), los cambios de color de la piel son más ligeros, con un oscurecimiento del color verde de más esmeralda a verde oscuro.

La madurez mínima de la palta se determina en cada país de origen del cultivar. En Sudáfrica, la madurez mínima para la palta variedad Fuerte es 80% de humedad y 20% de materia seca y para la variedad Hass y Carmen1-Hass es de 77% de humedad y 23% de materia seca (Blakey, 2016).

Los lípidos y el agua son los dos componentes principales de la palta madura; el contenido de aceite en algunas variedades de palta puede variar entre el 10 y el 32% sobre una base de peso fresco de pulpa (fruta), dependiendo del cultivar y del Tiempo de cosecha, para la variedad Hass, es de 30% sobre un peso fresco de pulpa, dependiendo de la zona de cultivo (Requejo-Tapia, 1999; Schaffer *et al.*, 2013).

El contenido total de aceite en el fruto aumenta durante el desarrollo en el árbol, el nivel de aceite y la composición de ácidos grasos no cambian después de la cosecha de la fruta. No se observaron cambios en la composición y concentración de ácidos grasos a temperaturas de almacenamiento de 0 - 7 °C durante 2 - 6 semanas, ni durante la

maduración posterior, estos resultados se observaron en los dos Cultivares Hass y Fuerte (Schaffer *et al.*, 2013).

En la pulpa de la palta, los lípidos se almacenan en dos tipos de células: las células del parénquima y en las células de idioblastos; el 85% de los lípidos totales presentes en la palta están presentes como triglicéridos, que se presentan como gotitas o cuerpos de aceite dispersos en el citoplasma de las células del parénquima (Moreau & Kamal-Eldin, 2008). Los idioblastos son más grandes que las células del parénquima. Sin embargo, éstas corresponden sólo aproximadamente al 2% de las células del mesocarpio. Los idioblastos en el proceso de prensado en frío pueden descomponerse en el proceso de extracción (y por lo tanto se liberan en el aceite), o permanecer en la fase sólida, o corriente líquida (Moreau & Kamal-Eldin, 2008).

El contenido de aceite es una medida de la madurez mínima para cosechar palta (Schaffer *et al.*, 2013). Los reglamentos o recomendaciones para un tiempo de cosecha, se basan en la relación entre el contenido de aceite (medido por extracción con disolvente) y la materia seca (Villa-Rodriguez *et al.*, 2010).

2.1.4. PALTA VARIEDAD HASS.

La planta es medianamente vigorosa, produciendo cosechas comparativamente altas en años alternos. En algunas localidades es frecuente observar, en un año determinado, que la mitad de las plantas de un huerto muestran buena fructificación, mientras que la otra mitad de las plantas presenta escasa cantidad de frutos. Tiene una menor tolerancia

relativa a la concentración de sales. Su fruto de 170 g a 350 g, aunque en varios países tiende a ser de poco peso, es una pulpa cremosa de sabor excelente, sin fibra, contenido de aceite de 23,7%, cáscara algo coriácea, rugosa, color púrpura oscuro al madurar, semilla pequeña y adherida a la cavidad. Asimismo su fruta se puede mantener en el árbol por algunos meses después de su madurez fisiológica y presenta un excelente grado de conservación y de resistencia al transporte (Rimache, 2007).

2.2. ACEITE DE PALTA.

2.2.1. CARACTERÍSTICAS.

Los frutos de palta son bien conocidos, con milenios de consumo en las Américas y una reciente popularidad en el resto del mundo, a lo largo de la historia, el aceite de palta era famoso por sus propiedades curativas y regeneradoras, los primeros escritos del Siglo XVI informaron el uso del aceite obtenido de la semilla para tratar erupciones y cicatrices. Los usos predominantes del aceite de palta se encuentran en la industria cosmética debido a su estabilidad y alto nivel de vitamina E (α -tocoferol), no obstante en marcadores selectos su forma comestible es altamente valorado. Sin embargo, el volumen de aceite de palta producido (o comercializado) es relativamente pequeño comparado con otros aceites comestibles (Moreau & Kamal-Eldin, 2008).

Los principales ácidos grasos de la pulpa de palta madura variedad Hass son ácido oleico (74,25 g Kg⁻¹), ácido linoleico (26,87 g Kg⁻¹), ácido palmítico (26,02 g Kg⁻¹), ácido palmitoleico (1,22 g Kg⁻¹) y esteárico (0,05 g Kg⁻¹) (Aliakbarzadeh *et al.*, 2016).

La concentración de aceite de palta variedad Hass durante la maduración es bastante estable y varía de 24,8 a 36,7% (Peso seco), dependiendo de la madurez de la fruta, además la heptosa es una fuente importante de carbono y / o energía en el fruto de palta (Brakey et al., 2015). Mientras que Moreau & Kamal-Eldin (2008) reporta evaluación de palta variedad Hass en relación a los ácidos grasos, realizados en cinco países tal como se muestra en el cuadro 2.

Cuadro 2. Composición de ácidos grasos de aceite de aguacate Hass de cinco países.

Ácidos grasos (% del total)	Nueva Zelanda	Australia	Chile	México	California
	Promedio	Promedio	Promedio	Promedio	Promedio
Ácido palmítico(16: 0)	12.3	21.7	13.1	14.8	14.5
Ácido Palmitoleico (16: 1)	4.1	9.3	3.6	7.9	4.1
Ácido esteárico(18:0)	0.3	0.4	0.4	0.4	0.3
Ácido oleico(18:1)	71.5	51.8	68.2	66.8	65.3
Ácido linoléico(18:2)	11.6	16.0	13.2	9.5	15.0
Ácido linolénico(18:3)	0.5	0.8	0.8	0.6	0.8

Fuente: Moreau & Kamal-Eldin (2008).

2.2.2. EXTRACCIÓN

La liberación del aceite de la pulpa de la palta no es tan fácil como en otros tejidos de frutas, dado que la pulpa tiene un alto contenido de agua. La extracción por medios mecánicos conduce a rendimientos pobres en aceite, mientras que el uso de Solventes (éter de petróleo, éter etílico o benceno) da lugar a recuperaciones de entre 60 y el 90% del total de aceite disponible. Sin embargo los compuestos bioactivos pueden ser significativamente degradados (Meyer & Terry, 2008).

El proceso de extracción de aceite de aguacate Hass (*Persea americana* Mill) utilizando 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; 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). 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 de la palta Hass (Buelvas *et al.*, 2012).

2.2.3. ESTABILIDAD OXIDATIVA

La presencia de luz tiene una fuerte influencia sobre la estabilidad oxidativa del aceite de palta, el alto nivel de clorofila presente en el aceite de aguacate actúa como un fotosensibilizador que promueve la oxidación, Mientras que los tocoferoles y los carotenoides presentes son inhibidores de la oxidación. La clorofila por exposición a la luz, reacciona con los lípidos para formar oxidación intermedia y puede reaccionar adicionalmente para formar radicales libres y productos de oxidaciones (Holt, 2016).

La presencia de tocoferoles inhibirá la autooxidación al inhibir la iniciación y la propagación de los radicales libres. Los tocoferoles donan su hidrógeno fenólico a los radicales libres de lípidos presentes. La contribución de los antioxidantes a la protección del aceite de aguacate

dependerá de las condiciones de almacenaje. Los tocoferoles son más protectores a altas temperaturas y a oscuridad mientras que los carotenoides son protectores en condiciones de luz. La investigación demuestra que se encontró una reducción tanto de las clorofilas como de los carotenoides cuando el aceite se almacenó bajo condiciones de luz u oscuridad a temperaturas similares; para minimizar la oxidación del aceite de aguacate durante el almacenamiento, se debe eliminar Luz y oxígeno; Por lo tanto, se debe almacenar el aceite en botellas de vidrio de color oscuro limpio o contenedores de acero inoxidable (Moreau & Kamal-Eldin, 2008; Holt, 2016).

Para aumentar la vida útil de los aceites, a menudo se añaden antioxidantes (reducen la oxidación) como palmitato de ascorbilo, ácido cítrico, tocoferoles mixtos y una combinación de tocoferoles y el ácido cítrico, fueron probados para ver si podrían retardar la oxidación en el aceite de palta. Los aceites y los antioxidantes añadidos se almacenaron en la oscuridad a 60 °C durante más de 20 días; durante este periodo se muestran que el palmitato de ascorbilo proporcionó una protección significativa contra la oxidación, al igual que el ácido cítrico, pero los tocoferoles mezclados dieron poca protección y niveles altos de tocoferoles tenían propiedades prooxidantes (Moreau & Kamal-Eldin, 2008).

Restrepo *et al.*, (2012) comparó la extracción de aceite de aguacate variedad Hass cultivado en Colombia, obtenido por fluidos súper críticos, prensado en frío y mediante el método soxhlet. El primero consistió en la aplicación de liofilización a -25 °C, 0.05 Mbar; el segundo, secado

convectivo a 45 °C y, por último, secado solar controlado con una temperatura en el interior por debajo de 45°C, hasta que la humedad del producto alcanzo el 10%. Posteriormente, se extrajo el aceite por fluidos supercríticos a 25 MPa, 313K, prensado en frío y soxhlet, respectivamente; la extracción por fluidos supercríticos permitió alcanzar el máximo rendimiento, el menor índice de acidez, baja oxidación de los ácidos grasos insaturados y mayor índice de yodo, comparado con métodos de extracción convencionales como prensado en frío y soxhlet.

2.3. ALIMENTOS FUNCIONALES

2.3.1. DEFINICIÓN

Un alimento puede considerarse como "funcional" si demuestra que afecta beneficiosamente a una o más funciones objetivo en el cuerpo humano, más allá de los efectos nutricionales adecuados; es decir debe mejorar el estado de salud y bienestar y / o reducción de riesgo de sufrir enfermedades. Los alimentos funcionales deben seguir siendo alimentos y deben demostrar sus efectos cuando se ingieren en cantidades habituales de consumo en la dieta (Gopal & Mirillon, 2013).

2.3.2. COMPUESTOS BIOACTIVOS

1.1.1.1 COMPUESTOS FENÓLICOS

Son moléculas que tienen uno o más grupos hidroxilo unidos a un anillo aromático, junto con las vitaminas, los compuestos fenólicos se consideran importantes antioxidantes en la dieta. Juegan una serie de funciones metabólicas en las plantas, en el crecimiento y

reproducción, y en la protección contra patógenos externos y estrés. Son responsables del color y las características sensoriales de las plantas y alimentos. Los tres grupos más importantes de compuestos fenólicos son los flavonoides, los ácidos fenólicos y los polifenoles (Peñarrieta *et al.*, 2014; Vinha *et al.*, 2013).

Los compuestos fenólicos difieren estructuralmente de moléculas simples, como ácidos fenólicos, y de compuestos altamente polimerizados, tales como proantocianidinas (taninos), que se producen en las plantas y son comunes en muchos alimentos (frutas, verduras, cereales) y bebidas como el vino, cerveza y té (Pereira *et al.*, 2014). Contribuyen a la pigmentación de los alimentos vegetales y son agentes de protección contra la luz ultravioleta (Shahidi & Naczki, 2004; Dreher *et al.*, 2013).

Los polifenoles se caracterizan por tener al menos un anillo aromático con uno o más hidroxilo grupos adjuntos; constituyen uno de los grupos más numerosos y ampliamente distribuidos de sustancias en el reino vegetal con más de 8000 estructuras fenólicas actualmente conocidas; los fenólicos van desde simples, de bajo peso molecular, compuestos de anillos aromáticos individuales a grandes y complejos taninos y polifenoles derivados; se pueden clasificar según el número y la disposición de sus átomos de carbono y se encuentran comúnmente conjugados con azúcares y ácidos orgánicos; los fenólicos se pueden clasificar en dos grupos: los flavonoides y no flavonoides (Crozier *et al.*, 2007; Rodríguez-Carpena *et al.*, 2011).

1.1.1.2 CAROTENOIDES

Los carotenoides son pigmentos naturales de tono brillante de color amarillo, naranja y rojo de numerosas frutas comestibles (Vinha *et al.*, 2013). Como ejemplo el β -caroteno, precursor de la vitamina A, el licopeno de los tomates, las xantofilas del melocotón, etc. Se han identificado más de 300 carotenoides que pueden clasificarse en dos grupos: carotenoide-hidrocarburos carotenoides y los Xantofilas (u oxicarotenoides) – derivados que contiene oxígeno (Dreher *et al.*, 2013)

Los carotenoides son sensibles al calor y a pH extremos, estos agentes pueden provocar una transformación parcial cis-trans de ciertos dobles enlaces, lo que puede modificar el color o el valor nutritivo. Asimismo los carotenoides son muy sensibles a la oxidación por el oxígeno del aire, reacción catalizada por la luz, lipoxidasas y peróxidos lipídicos, esta reacción es responsable de la decoloración de algunos vegetales en conserva (Cheftel & Cheftel, 1995, Dreher *et al.*, 2013).

Los pigmentos carotenoides en la dieta humana actúan como precursores de la vitamina A. El β -caroteno posee mayor actividad provitamina A debido a sus dos anillos de β -ionona. Otros carotenoides como el α -carotenoide y β -criptoxantina también poseen actividad provitamina A. Se estima que los carotenoides provitamina A presentes en frutas y hortalizas proporcionan el 30 al

100% de necesidades de vitamina A de las poblaciones humanas (Fennema, 2000; Dreher *et al.*, 2013).

Los carotenoides son una clase importante de más de 600 moléculas naturales sintetizado por plantas, algas y bacterias fotosintéticas. Puede impartir pigmentación amarilla, naranja o roja a un organismo y son potentes antioxidantes. Además, los carotenoides desempeñan diversas funciones fisiológicas en diversos entornos específicos para la vida del organismo y actúan como; componentes estructurales esenciales para el ensamblaje del LHC y estabilidad, como pigmento de acción de la luz, como componentes de exceso de energía en situaciones de mucha luz y como consumidores de oxígeno (Frank *et al.*, 1999; Holt, 2016), en particular están asociados con proteínas e integrados en las membranas lipídicas, protección contra daño oxidativo de las biomembranas (Landrum, 2010)

Las frutas y verduras son fuente de carotenoides dietéticos como: α -caroteno, β -caroteno, β -criptoxantina, luteína, licopeno y zeaxantina. En general los carotenoides se dividen en dos clases: carotenos (α -caroteno, β -caroteno y licopeno) y xantofilas (β -criptoxantina, luteína y zeaxantina); α -caroteno, β -caroteno y β -criptoxantina son provitaminas (Ramawat & Merillon, 2013). La mayoría son tetra terpenos formados por ocho unidades de isopreno, típicamente β -caroteno (Krinsky *et al.*, 2004).

2.3.2.3 CLOROFILA

La clorofila es un pigmento verde que se encuentra en la mayoría de las plantas, su nombre viene del griego chloros que significa "verde" y phyllon "hoja", toda las formas de clorofila son solubles en aceite (Inanc, 2011). Las clorofilas son pigmentos responsables de la fotosíntesis, que convierte la energía de la luz en energía química; en presencia de luz, los carbohidratos y otros compuestos orgánicos se producen a partir de dióxido de carbono y agua con oxígeno; todas las plantas verdes contienen clorofila-a y clorofila-b; en plantas superiores la clorofila-a es el pigmento principal y la clorofila-b es un pigmento secundario (Gross, 1991 & Gunstone, 2011).

2.3.3. CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

Un antioxidante puede ser definido como cualquier molécula capaz de prevenir o retardar la oxidación (pérdida de uno o más electrones) de otras moléculas, generalmente sustratos biológicos como lípidos, proteínas o ácidos nucleicos. La oxidación de tales sustratos podrá ser iniciada por dos tipos de especies reactivas: los radicales libres, y aquellas especies que sin ser radicales libres, son suficientemente reactivas para inducir la oxidación de sustratos como los mencionados. Un radical libre es cualquier especie (átomo, molécula o ion) que contenga a lo menos un electrón desapareado en su orbital más externo, y que sea a su vez capaz de existir en forma independiente (INTA, 2018).

2.3.4. PROPIEDADES FUNCIONALES DE LA PALTA

Los frutos maduros de palta contienen compuestos fenólicos como ácido gálico, ácido sinapínico, vainillina, ácido p-cumárico y el ácido genticico. La epicatequina disminuyó con la fruta maduración, mientras que el ácido protocatequídico, el ácido 4-hidroxibenzoico, el ácido clorogénico y el ácido benzoico fueron relativamente estables con la maduración de los frutos de palta (Massenti & Lo Bianco, 2016). La pulpa de palta variedad Hass contiene carotenoides ($0,815 \pm 0,201$ mg / 100 g), compuestos fenólicos ($410,2 \pm 69,0$ mg / 100 g), flavonoides ($21,9 \pm 1,0$ mg / 100 g), vitamina E ($5,36 \pm 1,77$ mg / 100 g), actividad antioxidante de DPPH (23%) (Vinha *et al.*, 2013).

Los aceites extraídos de fuentes vegetales también contienen una serie de fitoquímicos, que pueden tener importantes beneficios para la salud en términos de prevención de enfermedades, por su naturaleza mono-insaturada. El aceite de palta contiene concentraciones relativamente altas de otros fitoquímicos, estos fitoquímicos incluyen pigmentos tales como clorofilas y los carotenoides, que dan al aceite su color distintivo, otros fitoquímicos presentes que contribuyen a la salud son los tocoferoles, principalmente α -tocoferol y esteroides, principalmente sitosterol (Moreau & Kamal-Eldin, 2008, Araujo *et al.*, 2017).

La α -tocoferol es la forma principal de vitamina E que se encuentra en el aceite de palta, en concentraciones mínimas se tiene a β -tocoferol, δ -tocoferol y Γ -tocoferol también presente en el aceite de palta Hass. Tocotrienoles no se encontraron en aceite de aguacate. La vitamina E es

una vitamina esencial que tiene buenas propiedades antioxidantes (Moreau & Kamal-Eldin, 2008; Rafique & Akhtar, 2018). La retención de vitamina E ayuda a prolongar la vida útil del aceite de palta, ya que la α -tocoferol captura los radicales libres producidos durante las reacciones de oxidación, la reducción de las reacciones de oxidación es importante para reducir la formación de hidroperóxidos y, en última instancia, la formación de cambios de sabor (Araujo *et al.*, 2017). Como los tocoferoles son inestables y sensibles a la luz, la retención de tocoferol se maximiza realizando la extracción de aceite en oxígeno bajo y condiciones de luz. (Moreau & Kamal-Eldin, 2008).

Los esteroides vegetales disminuyen la adsorción de colesterol en los seres humanos. El sitosterol es el principal esteroide vegetal presente en el aceite de palta. Se tiene también otros esteroides pero en concentraciones más bajas y estas son: Δ -5-avenasterol, campesterol y estigmasterol. Durante el almacenamiento el sitosterol es estable en el aceite, la concentración de sitosterol en aceite de palta (promedio de 3,3 mg /g-1 de aceite hasta 4,5 en algunos casos) es significativamente superior a la del aceite de oliva (promedio de 1,62-1,93 mg /g - 1 de aceite) (Phillips *et al.*, 2002).

El nivel de carotenoides totales disminuyó al 30% del valor original (cosecha de palta con pulpa de color verde pálido) y cuando el aceite se extrae de paltas maduras, los niveles de carotenoides son altos. La investigación muestra que un alto nivel de pigmentos está presente en la piel de la palta, y si se incluye más piel durante extracción, entonces se

puede extraer un mayor nivel de carotenoides en el aceite (Ashton *et al.*, 2006)

En un estudio preliminar, se investigó el contenido de compuestos fenólicos del aceite de palta extraídos con diferentes cantidades de piel. En condiciones totalmente comerciales prensado en frío; los polifenoles se extrajeron del aceite de palta utilizando el método descrito por Kalua *et al.*, (2005) para el aceite de oliva y con algunas modificaciones. Brevemente, se añadió hexano a una muestra de aceite, y los polifenoles se extrajeron con Metanol / agua / ácido fórmico. Los extractos resultantes se analizaron para compuestos fenólicos por cromatografía líquida de alta resolución de fase inversa (HPLC) utilizando una columna Zorbax SB con un gradiente de disolvente de ácido fórmico/acetonitrilo. Los resultados Mostraron que los aceites de palta contienen fenólicos. Los espectros de los dos componentes principales tenían máximos de absorción en 280 nm y 350 nm, lo que sugiere que estos compuestos son probablemente compuestos fenólicos o flavonoides (Moreau & Kamal-Eldin, 2008).

2.4. EXTRACCIÓN POR FLUIDOS SUPERCRÍTICOS (SPE)

2.4.1. FLUIDOS SUPERCRÍTICOS

Un fluido supercrítico es una sustancia que se encuentra en unas condiciones operativas de presión y temperatura superiores a las del punto crítico (Limite de distinción entre un líquido y vapor), lo cual proporciona mayor poder penetrante y previene la degradación térmica de compuestos termosensibles en el momento de extracción. La temperatura crítica, es la temperatura por encima de la cual un gas no puede licuarse

a cualquier presión. Por lo tanto, el punto crítico representa el final del gas – líquido; la densidad de un fluido supercrítico se acerca a los del líquido, mientras que su viscosidad es baja y comparable al gas-líquido. Estas dos propiedades son la clave de la funcionalidad de los fluidos supercríticos como extractantes; la densidad relativamente alta imparte al fluido supercrítico una buena capacidad de solubilización mientras que la baja la viscosidad da como resultado una permeación particularmente rápida del disolvente en la matriz sólida (Berk, 2009).

2.4.2. EXTRACCIÓN CON FLUIDOS SUPERCRÍTICOS

Es el proceso mediante el cual se pueden obtener diversos compuestos aprovechando el poder disolvente de fluidos a presiones y temperaturas por encima de su punto supercrítico, lo cual proporciona mayor poder penetrante y previene la degradación térmica de compuestos termosensibles en el momento de extracción, la extracción puede realizarse en sólidos o líquidos, el solvente es un gas denso en condiciones de temperatura y presión donde un aumento adicional en la presión o una reducción en la temperatura no da como resultado un cambio de fase de gas a líquido; La densidad de un fluido supercrítico es casi la de un líquido. Además, la solubilidad de los solutos se acerca a la solubilidad en un líquido (Toledo, 2007).

2.4.3. CO₂ COMO UN FLUIDO SUPERCRITICO

El solvente de un fluido supercrítico más deseable para la extracción de productos naturales para alimentos y medicamentos es el dióxido de carbono (CO₂); es un producto inerte, de bajo costo, de fácil acceso,

inodoro, insípido, respetuoso con el medio ambiente y solvente GRAS (generalmente considerado como seguro); en el procesamiento de fluido supercríticos con CO₂, no hay residuos de solvente en el extracto; su temperatura crítica es cercana al ambiente (31.1 ° C), lo hace ideal para productos naturales termolábiles; debido a su bajo calor latente de vaporización, se requiere poca energía para la separación del extracto sistema que rinde los extractos de olor natural y sabor natural; la energía requerida para alcanzar el estado supercrítico de CO₂ es a menudo menor que la energía asociada con un solvente orgánico convencional; en general, la extractabilidad de los compuestos con CO₂ supercrítico depende de la ocurrencia de los grupos funcionales individuales en estos compuestos, sus pesos moleculares y polaridad (Mukhopadhyay, 2000).

2.4.4. EXTRACCIÓN DE ACEITE MEDIANTE DIÓXIDO DE CARBONO

La extracción por fluidos supercríticos es la técnica más adecuada para la producción de aceite de palta, que permitió alcanzar el máximo rendimiento, el menor índice de acidez, baja oxidación de los ácidos grasos insaturados y mayor índice de yodo, comparado con métodos de extracción convencionales como prensado en frío y soxhlet (Restrepo *et al.*, 2012). Aceite de palta enriquecido con licopeno de orujo de tomate, se extrajeron con dióxido de carbono supercrítico, la mejor extracción fue a 400bar y 50°C (Barros *et al.*, 2016). La extracción de CO₂ supercrítica ha demostrado ser técnicamente viable para extracción de aceite de palta, especialmente en condiciones de presión más alta (400 bar) con 97-98% de obtención de aceite; excepto a 80 ° C y 200 bar(Corzzini *et al.*, 2017).

CAPÍTULO III

MATERIALES Y METODOS

3.1. LUGAR DE EJECUCIÓN

El presente trabajo de investigación se desarrolló en el Distrito Moquegua, Provincia de Mariscal Nieto de la Región de Moquegua situado a 1410 m.s.n.m. Las pruebas experimentales y los análisis de laboratorio se llevaron a cabo en los siguientes lugares:

- Evaluación de la madurez de palta, se realizó en las instalaciones del laboratorio de ingeniería de procesos de la escuela profesional de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Nacional de Moquegua.
- Extracción de aceite de palta mediante dióxido de carbono supercrítico, se realizó en las instalaciones del laboratorio de investigación de química de alimentos de la facultad de Ingeniería en Industrias Alimentarias de la Universidad Nacional del Centro del Perú - Huancayo.
- Evaluación de compuestos fenólicos totales, carotenoides totales, clorofila-a y actividad antioxidante del aceite de palta, se realizó en el

laboratorio de la escuela profesional de Ingeniería Industrias Alimentarias de la Universidad Nacional José Faustino Sánchez Carrión de Huacho.

- La evaluación de la estabilidad del aceite de palta se realizó en el laboratorio de la carrera profesional de ingeniería en industrias alimentarias de la Universidad Nacional de Barranca.

3.2. MATERIA PRIMA.

Se utilizó palta variedad Hass proveniente del valle de Moquegua, Irrigación San Antonio de la comisión de riego alto Moquegua, campaña agrícola 2017.

3.3. MATERIALES Y EQUIPOS.

3.3.1. Materiales.

- Fiolas de 1ml, 5ml, 10ml, y 25ml.
- Vasos de precipitado de 10, 25, 50, 100, 200, 400 y 500 ml
- Probetas de 25, 50, 100 y 500ml.
- Papel toalla doble hoja
- Placa Petri
- Pinzas
- Espátulas
- Micropipetas de 5-50 μ l y 10-100 μ l, Marca ISO LAB Laborgerete GmbH
- Termómetro ambiental (Clock & Thermometer) Marca Boeco Germany.
- Papel aluminio

- Aceite de palta comercial extraído en frío marca MN MARNYS,
- Otros.

3.3.2. Reactivos.

Todos los reactivos fueron de grado reactivo o HPLC y fueron adquiridos de Sigma-Aldrich, los cuales se detallan:

- Metanol grado reactivo y grado HPLC
- Hexano
- Agua bidestilada
- Reactivo de Folin-Ciocalteu
- Hidróxido de sodio 0.3M
- Acido gálico
- Trolox 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)
- ABTS (2,2'-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)
- Otros.

3.3.3. Equipos.

- Balanza analizadora de humedad (Ohaus).
- Ultracongelador (NuAire, USA).
- Liofilizador de laboratorio BK-FD10PT (BioBase).
- Sistema de extracción con fluidos supercríticos Speed SFE Basic (Applied Separation, PA, USA).
- Lector de placa multipocillo Synergy HT (High-Throughput Technology) (BioTek, USA).
- Sistema OXITEST (Velp Scientifica, Usmate, Milan, Italy).

- Otros.

3.4. MÉTODO DE INVESTIGACIÓN

3.4.1. Procedimiento de obtención de aceite de palta

a. Materia Prima

Palta variedad Hass proveniente del valle de Moquegua de la campaña agrícola 2017.

b. Selección

La palta fue seleccionada de acuerdo a su madurez y se separaron aquellas con defectos (presencia de hongos, etc.), la operación se realizó en forma manual y con el uso de guantes.

c. Lavado y desinfección

La palta madura fue lavada con agua y luego fue desinfectado con solución de agua más cloro, con el que se removieron todas las impurezas.

d. Pelado

De la palta con buena madurez se retiró la cáscara y la pepa, esta operación se realizó en forma manual y con la ayuda de cuchillo, y se obtuvo la parte comestible (Pulpa).

e. Cortado y pesado

La parte comestible de la palta fue cortada en 4 a 5 trozos y en forma de láminas, posteriormente fue pesado, la operación se realizó en forma

manual y con la ayuda de balanza, inmediatamente fue empacado en bolsa de polietileno de cierre hermético, para luego ser congelados.

f. Congelado

Las muestras de palta empacada fueron congeladas a -80°C por un tiempo de 24 horas, en un ultra congelador (NuAire, USA).

g. Liofilizado

Las muestras de palta congeladas fueron liofilizadas en equipo liofilizador BK- FD10PT, por un tiempo de 40 horas.

h. Molido y tamizado

Las muestras liofilizadas fueron molidas en molino doméstico Taurus y tamizado sobre tamiz Número 100, luego fueron empacados en bolsas de polietileno.

i. Extracción

Las muestras de palta molidas fueron sometidos a un proceso de extracción con CO_2 supercrítico utilizando un extractor de fluidos supercríticos Sped-ed SFE Basic de leche fijo (Applied Separation, PA, USA) de acuerdo a la metodología (Corzzini *et al.*, 2017). El lecho del sistema fue empacado con 20g de muestra dispersado de manera uniforme y horizontal, la extracción en el lecho fue a 400 bar y a temperatura de 40°C y 80°C , el fluido supercrítico que atravesó el lecho estuvo a razón de a 2.5 g/min y fue colectado a intervalos de tiempo definidos. Durante la extracción del aceite la recepción fue

monitoreada, en la primera fase cada 20 min en las primeras 3 h de extracción y cada 30 min en la segunda fase de 1.5 h, el proceso se realizó para medir el rendimiento global según la ecuación (Abaide *et al.*, 2017).

j. Envasado

Las muestras de aceite obtenidas fueron envasadas en recipientes de vidrio.

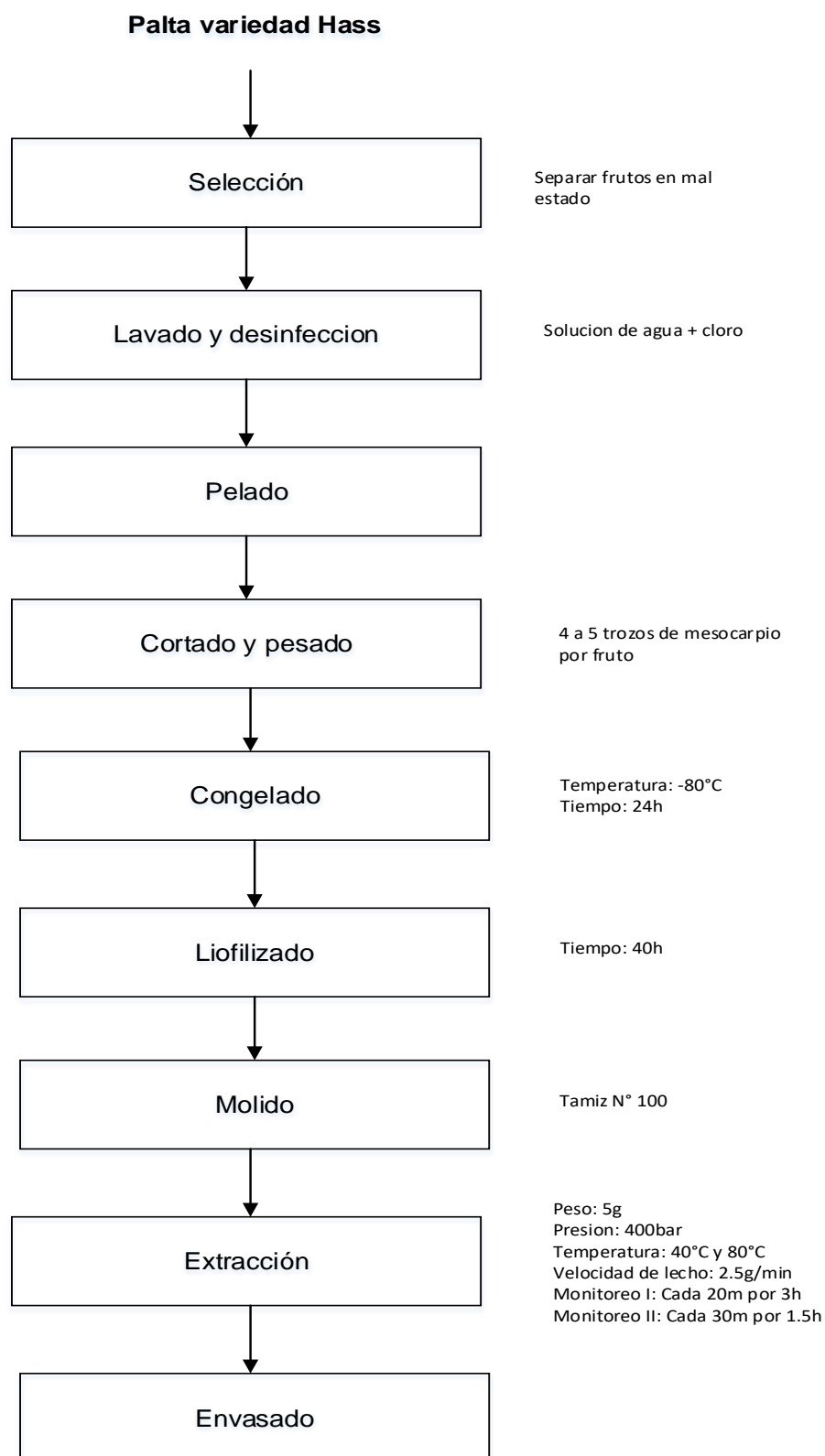


Figura 1. Proceso de obtención de aceite de palta variedad Hass mediante dióxido de carbono supercrítico.

3.5. METODO DE ANALISIS

3.5.1. Determinación de madurez de la palta

La madurez de la palta se evaluó mediante contenido de materia seca (Blakey, 2016) la materia seca se determinó en Termobalanza (balanza analizadora de humedad). Se pesó 5g de muestra cortado en forma de lámina de un promedio de 1.5mm de espesor (ISFV, 2004). La muestra fue colocada en el platillo de secado de la termobalanza. Se procedió al secado de la muestra a 100°C hasta el tiempo determinado por la Termobalanza. Los resultados se calcularon mediante correlación Peleg vs tiempo de secado, El modelo de secado para frutas de Peleg (Onwude, *et al.*, 2016) fue el siguiente:

$$MR = 1 - t/(a + bt)$$

Donde:

MR: Proporción de humedad

t: tiempo

a, b : Constantes empíricas del modelo de secado

3.5.2. Determinación de rendimiento total de aceite

El rendimiento global de la obtención de aceite de palta variedad Hass fue determinado según la ecuación (Abaide *et al.*, 2017) descrita:

$$R_G = \frac{MA}{ML} \times 100 = f(T)$$

Donde:

R_G : Rendimiento global de aceite.

MA : Masa de aceite extraído.

ML : Masa de la muestra liofilizada cargada.

3.5.3. Determinación de color de aceite

El color del aceite de palta fue determinado por el método colorimétrico y los resultados fueron correlacionados mediante el método adaptado por Minguez-Mosquera *et al.* (1991).

3.5.4. Determinación de compuestos fenólicos totales

El contenido de fenólicos totales se determinó mediante el método Folin-Ciocalteu adaptado del método descrito por Koseoglu *et al.* (2016), Xiang *et al.* (2017) & Mostert *et al.* (2007). Para la evaluación se utilizó 0.5g de aceite de palta variedad Hass y luego se disolvió en 1 mL de hexano y los compuestos fenólicos se extrajeron en 1 mL de metanol/agua (60:40 v/v) mediante agitación durante 2 minutos. Las fases hexano y metanol/agua se separaron por centrifugación a 5000 rpm x 10 min a temperatura ambiente. La fase metanol/agua fue diluida y se usó para cuantificar el método micro y rápido previamente descrito (Mostert *et al.*, 2007). La muestra diluida de 50 μ L se mezclaron con 50 μ L del reactivo de Folin-Ciocalteu (1:20 v/v) en una placa multipocillo transparente N° 96 (Nessler, Madrid, España) y después de 2 min de reposo a temperatura ambiente se adiciono 100 μ L de hidróxido de sodio (0.3 M) y después de 10min, se realizó la lectura en el equipo lector de placas Synergy HT a una absorbancia de 760 nm. El contenido de fenólicos totales se expresa en mg de ácido gálico equivalente (GAE)/100g de muestra.

3.5.5. Determinación de contenido de carotenoides y clorofila

El contenido de carotenoides totales y clorofila-a se determinó mediante el método adaptado por Thrane *et al.* (2015) y Lichtenthaler (1987).

a. Extracción

Se utilizó 0.1 g de muestra de aceite de palta y se extrajo con 1 mL n-hexano en agitación a 5000 rpm durante 30 minutos a temperatura de ambiente en oscuridad (bortex). El extracto se centrifugó a 10000rpm durante 5 minutos a 4°C, el sobrenadante se transfirió a tubos eppendorf y se almacenó a -20°C hasta su análisis.

b. Contenido de carotenoides y clorofila

El extracto de carotenoides se disolvió en acetona y el espectro de absorción se determinó en un espectrofotómetro de alta resolución Lambda 1050 (Perkin Elmer, NY, USA) en el rango de 400 a 700 nm cada 0.5 nm. Los espectros de absorción se deconvolucionaron para identificar y separar los picos usando una línea base lineal, suavizado con un filtro FFT y el modelo de Gauss empleando el software PeakFit v.4.12 (Systat Software, Inc., USA) (Thrane *et al.*, 2015; Kupper *et al.*, 2007). El contenido de carotenoides y clorofila se calculó empleando las ecuaciones [1 a 4] descritas por Lichtenthaler (1987)

$$C_a = 16.72A_{665.2 \text{ nm}} - 9.16A_{652.4 \text{ nm}} \quad (1)$$

$$C_b = 34.09A_{652.4 \text{ nm}} - 16.54A_{665.2 \text{ nm}} \quad (2)$$

$$C_T = C_a + C_b \quad (3)$$

$$Car_T = \frac{1000A_{470\text{ nm}} - 1.91C_a - 95.15C_b}{225} \quad (4)$$

Dónde:

C_a , C_b y C_T son los contenidos de clorofila a, b y total en mg/mL, respectivamente.

Car_T es el contenido de carotenoides totales en mg/mL. A es la absorbancia.

3.5.6. Determinación de contenido de capacidad antioxidante

La capacidad antioxidante se determinó mediante el método ABTS adaptado del método descrito por Gonzales (2010), Re *et al.* (1999) y Huang *et al.* (2015). En la evaluación se utilizaron 10 μL de extracto y 990 μL de la solución del radical ABTS^{•+}. A los 30 min de reacción a temperatura ambiente y en la oscuridad, se leyó el cambio en la absorbancia respecto a la referencia del reactivo, a una longitud de onda de 734 nm. La referencia del reactivo consistió en una solución del radical ABTS^{•+} con el solvente de la muestra. Los resultados se expresaron como valores TEAC (trolox equivalent antioxidant capacity) mediante la construcción de una curva patrón usando como antioxidante Trolox.

3.5.7. Determinación de estabilidad del aceite de palta

La estabilidad de las muestras de aceite de palta se midió en el sistema de pruebas aceleradas no invasiva OXITEST (Velp Scientifica, Usmate, Milan, Italy) (Claus *et al.*, 2014). El equipo OXITEST fue programado a 90°C y 6 bar de presión de oxígeno, la muestra de aceite evaluada fue de 5g por cámara de oxidación, el tiempo de análisis de estabilidad fue entre 30 a 40 horas (parámetros de operación para aceites, recomendados de

acuerdo a catálogo de equipo OXITEST, el tiempo total depende del tipo de aceite) y después se sellaron las cámaras, posteriormente se calentaron a la temperatura programada y el equipo inyectó oxígeno hasta alcanzar una presión pre-definida. Cualquier compuesto oxidable reaccionó con el oxígeno reduciendo la presión en el interior de las cámaras. La presión fue continuamente monitoreada en ambas cámaras y a partir de ella, el programa OXISoft (Software de sistema OXITEST) determinó el punto de inducción (PI) como indicador de la estabilidad de la muestra.

3.6. MÉTODO DE ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

Para cuantificar las propiedades funcionales y la estabilidad de aceite de palta variedad Hass, las variables en la investigación fueron:

a. Variable independiente

Temperatura de extracción de aceite

a.1. Niveles: 40°C y 80°C

b. Variable dependiente.

- Compuestos fenólicos
- Carotenoides totales
- Clorofila-a
- Capacidad antioxidante
- Estabilidad del aceite

Para la evaluación se utilizó la prueba de comparaciones múltiples de Tukey a $\alpha=0.05$. Se aplicó tres tratamientos como son: aceite extraído a 40°C, Aceite extraído a 80°C y Muestra control (aceite extraído por prensado en frío marca

MARNYS, adquirido de supermercado) con tres repeticiones, con un total de 9 unidades experimentales por variable en estudio. El análisis estadístico se realizó en el programa Sigma Plot 11.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. MADUREZ DE PALTA

La palta variedad Hass madura resulto tener un $70.1 \pm 2.7\%$ de humedad y $29.9 \pm 2.7\%$ de materia seca. La humedad se midió usando una balanza infrarrojo y los datos de cinética de pérdida relativa de humedad (MR) (Figura 2) se ajustaron al modelo matemático de secado de Peleg. La bondad de ajuste del modelo se determinó con el valor de $R^2 = 0.997$ que se ve en el cuadro 3.

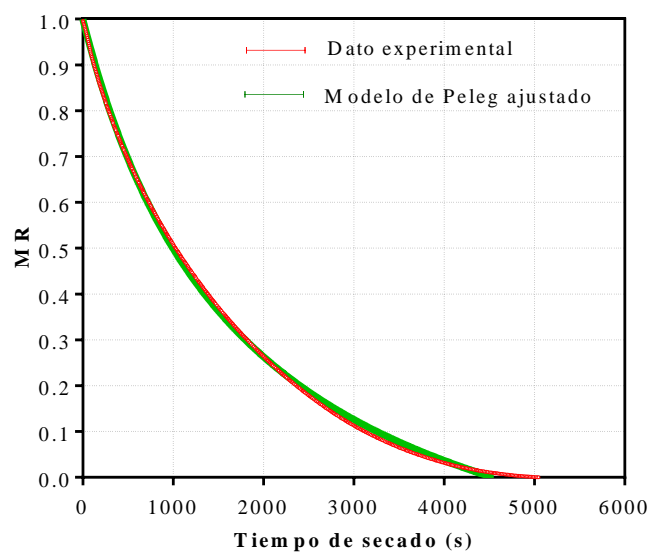


Figura 2. Cinética de secado mediante modelo matemático de Peleg.

Los resultados del cuadro 3, se encuentran por encima de los valores de la referencia de literatura (ISFV, 2004; Dreher & Davenport, 2012; Codex, 2013 & Blakey, 2016) que mencionan que el porcentaje mínimo de materia seca debe ser de 21% antes de ser cosechado. Los resultados de madurez obtenidos en el presente estudio son similares a los citados por Rodríguez & Henao (2016) quienes obtuvieron un promedio de $29,98 \pm 2,11\%$ de materia seca y por Abaide *et al.* (2017) quien reporta un promedio de humedad de $72.1 \pm 0.8\%$ de pulpa y los de la literatura científica (Esteban, 1993; Serpa *et al.*, 2014; Elena *et al.*, 2015).

Cuadro 3. Parámetros de cinética de secado de palta Hass.

Producto	Humedad	Parámetros de modelo Peleg		Valores de R
	(%)	A	b	R ²
Palta Hass	70.1 ± 2.7	1176.7 ± 178.7	0.725 ± 0.025	0.997

La diferencia entre materia seca antes y después de la cosecha se debe a que el porcentaje de humedad disminuye a medida que aumente la madurez postcosecha de la palta (Serpa *et al.*, 2014) además a mayor contenido de materia seca mayor es el contenido de aceite (Cerdas *et al.*, 2006; Culver & Wrolstad, 2006) y con un comportamiento inversamente proporcional donde a medida que disminuye la humedad se incrementa el contenido de aceite.

4.2. EXTRACCIÓN DE ACEITE DE PALTA VARIEDAD HASS MEDIANTE DIOXIDO DE CARBONO SUPERCRÍTICO

En el cuadro 4, se aprecia los resultados del rendimiento de la extracción de aceite de palta mediante dióxido de carbono supercrítico. El rendimiento del

aceite extraído a 400 bar y 40°C resultó con 39.07%, valor ligeramente mayor en relación al aceite extraído a 400 bar y 80°C que resultó con 38.45%. Este comportamiento se puede observar en otras investigaciones por ejemplo en el trabajo de Corzzini *et al.* (2017) quien realizó la extracción de aceite de palta y quien no especificando el tipo de variedad de palta, además se asemeja a los resultados obtenidos por Abaide *et al.* (2017) quien reporto un rendimiento de 10.1 y 39.8%.

En cuanto al rendimiento del aceite, la referencia bibliografía obtuvo un promedio aproximado de 61% de aceite (Mageshni *et al.*, 2012; Elena *et al.*, 2015). La diferencia podría deberse a la procedencia de la materia prima, la técnica de extracción, el tiempo de extracción, el equipo de extracción supercrítico, el gas comprimido y entre otros factores; por otro lado Farr & Proctor (2014) mencionan que la pulpa de la palta variedad Hass contiene un aproximado de 32% de aceite (basado en peso de pulpa fresca), siendo el resultado que más se aproxima al presente trabajo.

Sin embargo al hacer una comparación con la extracción de aceite de palta variedad Hass por el método de prensado en frio y según Culver & Wrolstad (2006) el rendimiento está entre 10 a 18%, por otra parte Doradea (2013) menciona que el rendimiento se encuentra entre 16 a 17%, mientras que Restrepo *et al.* (2014) menciona que el rendimiento se encuentra entre 55 a 53%. Los mismos que difieren con los resultados obtenidos en el presente proyecto, probablemente podría deberse a la zona de cultivo, factores genéticos y otros (Keiser & Wolstenholme, 2015).

Cuadro 4. Rendimiento en la extracción de aceite de palta variedad Hass.

Producto	Rendimiento (%)	
	Extracción a 40°C	Extracción a 80°C
Aceite de palta Hass	39.07	38.45

En la Figura 3 se aprecia la cinética de extracción del aceite mediante la convergencia de diferentes puntos de S/F (Masa de CO₂/masa de muestra) y valores de rendimientos, los mismos que representan una curva sigmodal. Al inicio de la curva las masas de muestra de palta liofilizada y CO₂ se encuentran en periodo de acondicionamiento y la extracción (400 bar) de aceite es mínima, en esta etapa del experimento presenta una ligera diferencia de extracción de aceite con 40° y 80°C. Posteriormente la extracción de aceite es constante y casi lineal, la muestra tratada a 400 bar y 40°C presenta la mayor extracción. Al final se tiene la zona que refleja el máximo de extracción alcanzada.

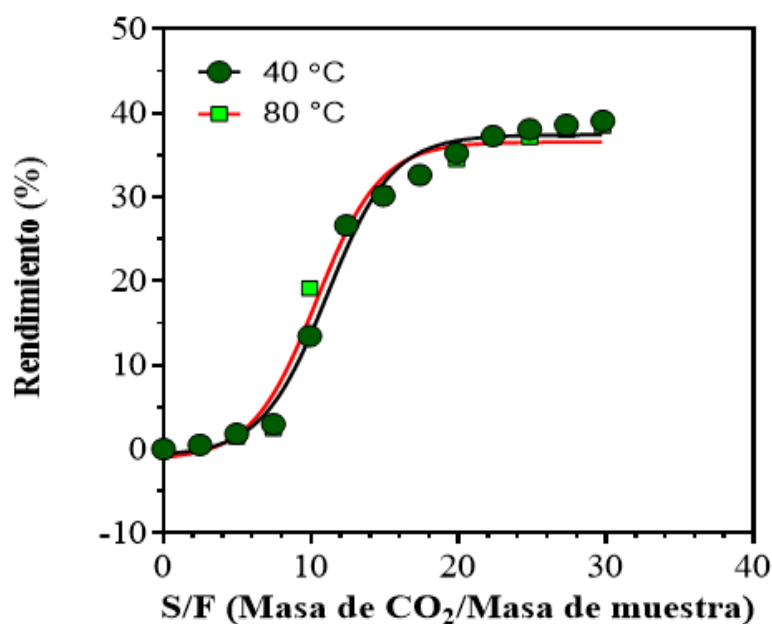


Figura 3. Curva de extracción de aceite de palta Hass.

En el cuadro 5 se observa los parámetros cinéticos de la extracción del modelo sigmoïdal y se utilizó el modelo logístico de cuatro parámetros 4PL desarrollado en software GraphPad Prisma 6. El R^2 de la muestra extraída a 400bar y 40°C resulto ligeramente mayor que la muestra extraída a 400 bar y 80°C lo que demuestra que el modelo sigmoïdal modela adecuadamente la extracción de aceite de palta mediante dióxido de carbono supercrítico.

Cuadro 5. Parámetros del modelo sigmoïdal de extracción de CO₂ supercrítica de aceite de palta Hass.

Parámetros de modelo sigmoïdal de Hill	Extracción Supercrítica	
	40 °C	80 °C
Top	37.40	36.55
Bottom	-0.8069	-1.267
LogIC50	11.09	10.34
HillSlope	0.1959	0.2002
IC50	1.227e+011	2.169e+010
Span	38.21	37.81
R ²	0.9905	0.9837

4.2.1. PARAMETROS DE COLOR DEL ACEITE DE PALTA

En el cuadro 6 se muestra los resultados de color de los tratamientos experimentados y la muestra control. El valor L^* (luminosidad) del aceite extraído a 400 bar y 40°C (28.4±0.3) resultó mayor que el aceite extraído a 400 bar y 80°C (24.6±1.3) y la muestra control (25.8±0.1). El parámetro a^* (Verde a rojo) del aceite comercial patrón (-0.6±0.1) resultó mayor que

el aceite extraído a 400 bar y 80°C (-0.3±0.8), y la que resultó con menor valor fue el aceite extraído a 400 bar y 40°C (-2.2±0.1). Respecto a la referencia bibliográfica y según Culver & Wrolstad (2006) el aceite de pulpa de palta extraído mediante la técnica de frío, su valor se encuentra entre - 0.5 a 0.7; y los colores decrecen de verde oscuro a verde pálido (Ashton *et al.*, 2006).

En cuanto a los resultados de **b*** (Amarillo a azul) el aceite extraído a 400 bar y 40°C resultó (17.6±0.3) mayor que el aceite comercial control (13.6±0.4), seguido del aceite extraído a 80°C (12.6±2.0); los mismos que se aproximan a los valores (-1.2 a 9.3) obtenidos Culver & Wrolstad (2006).

En la figura 4 se muestra que los valores de **ΔE*** en el aceite extraído a 400 bar y 80°C (72.1±1.3) resultaron mayor que el aceite comercial patrón (70.9±0.1) y el aceite extraído a 400 bar y 40°C (68.4±0.2).

En el cuadro 7 el aceite extraído SPE 40°C comparado con SPE 80°C presenta diferencia de color entre las muestras, mientras que comparado con el aceite control no presenta diferencia significativa. En cuanto al análisis de varianza de diferencia de color (**ΔE**) resultó altamente significativa ($P \leq 0.05$) lo que demuestra que la temperatura de extracción influye de alguna en los parámetros de color durante la extracción del aceite.

Cuadro 6. Parametros de color del aceite de palta variedad Hass.

Aceite	Parámetros de color					
	L	a*	b*	c*	h*	ΔE
E40°C	28.4±0.3	-2.2±0.1	17.6±0.3	17.7±0.3	97.1±0.3	68.4±0.2
E80°C	24.6±1.3	-0.3±0.8	12.6±2.0	12.6±2.1	91.2±3.2	68.4±1.0
Control	25.8±0.1	-0.6±0.1	13.6±0.4	13.6±0.4	92.3±0.2	70.9±0.1

*E40°C es aceite de palta extraído a 40°C y E80°C es aceite de palta extraído a 80°C.

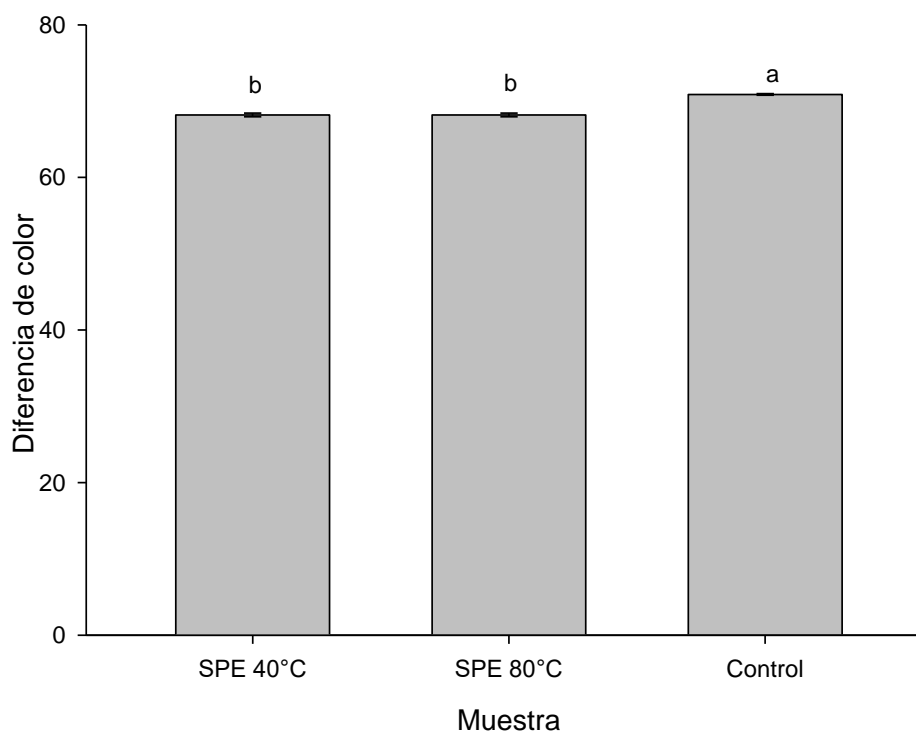


Figura 4. Diferencia de color (ΔE) de aceite de palta variedad Hass y muestra control.

Cuadro 7. Prueba de comparacion de TUKEY para diferencia de color (ΔE).

Comparación	N	Diferencia de promedio	q	Signific. ($P \leq 0.05$)
SPE 80°C vs. SPE 40°C	3	18	3.795	Si
SPE 80°C vs. Control	3	9	1.897	No
Control vs. SPE 40°C	3	9	1.897	No

4.3. PROPIEDADES FUNCIONALES DEL ACEITE DE PALTA

4.3.1. Compuestos fenólicos totales

La técnica de extracción de los compuestos fenólicos está basados en el poder reductor de los compuestos fenólicos y es capacidad de la sustancia transferir electrones. Los resultados del análisis de compuestos fenólicos totales del aceite extraído a 400 bar y 80°C resulto con 75.4 ± 2.4 mg GAE/Kg siendo mayor en relación al aceite extraído a 400 bar y 40°C quien obtuvo 69.0 ± 3.0 mg GAE/Kg. Por otro lado la muestra de aceite control resultó con 89.9 ± 2.3 mg GAE/Kg de compuestos fenólicos, mayor que las encontradas en las muestras de aceite extraídas mediante dióxido de carbono supercrítico (Figura 5).

En otros estudios, el aceite de palta variedad Hass extraída por un proceso termo-mecánico contiene 0.17 ± 0.01 mg ácido tánico/g de muestra (Yepes *et al.*, 2017), el mismo que es menor en relación a los resultados obtenidos en el presente estudio.

La prueba de comparación múltiples de Tukey del cuadro 8, muestran que las que el aceite SPE 40°C y SPE 80°C comparados con la muestra control resultaron diferentes. Los compuesto fenólico total del aceite de palta variedad Hass extraído a 400bar con 40 y 80°C y la muestra control resultó con análisis de varianza altamente significativo ($P \leq 0.05$), lo que demuestra que el factor temperatura influye en los niveles de fenólicos totales durante la extracción del aceite de palta.

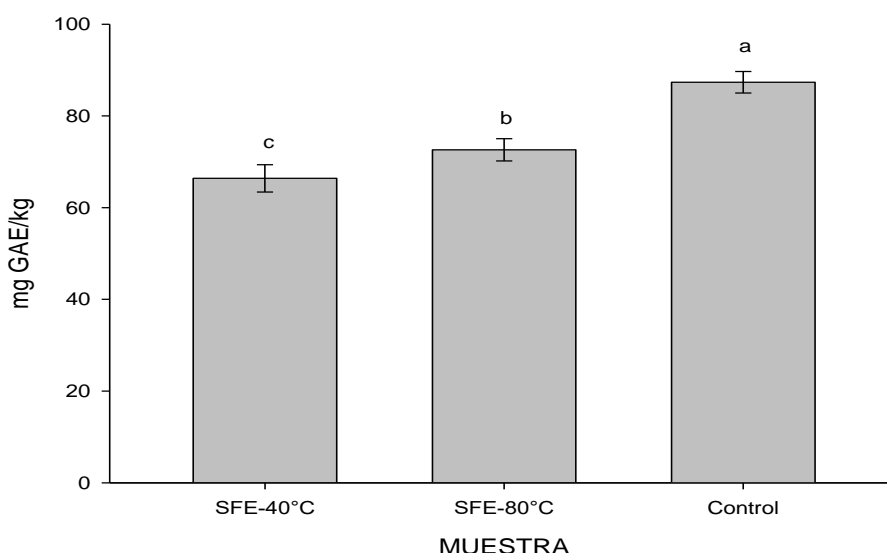


Figura 5. Fenolicos totales de aceite de palta variedad Hass y muestra control.

Cuadro 8. Prueba de comparacion de TUKEY para compuestos fenolicos.

Comparación	N	Diferencia de promedio	q	Signific. ($P \leq 0.05$)
Control vs. SPE 40°C	3	20.947	13.977	Si
Control vs. SPE 80°C	3	14.727	9.826	Si
SPE 80°C vs. SPE 40°C	3	6.220	4.150	No

*SPE: Extraccion de fluidos supercriticos.

4.3.2. Carotenoides

La extracción se realizó con el fin de comparar el contenido de carotenoides totales; el valor de carotenoide del aceite de palta extraído a 400 bar y 80°C fue 24.8 ± 1.6 mg caroteno/kg, seguido de la muestra extraída a 400 bar y 40°C con 22.3 ± 0.8 mg caroteno/kg y la muestra control con 17.9 ± 0.5 mg caroteno/kg de muestra (Figura 6). Moreau & Kamal-Eldin (2008) menciona que la pulpa de palta variedad Hass contiene un promedio de 30% de carotenoides.

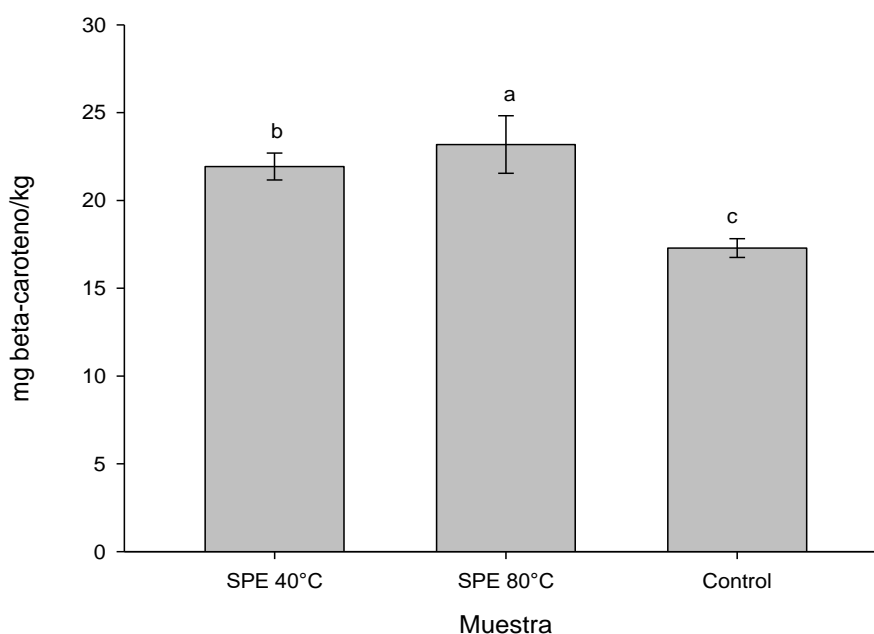


Figura 6. Carotenoide en aceite de palta variedad Hass y muestra control.

El aceite de palta de otras variedades contiene entre 0.9 a 3.5 mg/kg de carotenoides totales (Gunstone, 2011). Por otro lado Qin & Zhong (2016) menciona que los carotenoides totales en el aceite de palta esta entre 11.1 a 46.9 mg/kg de muestra. Ashton *et al.* (2006) refiere que durante la madurez de la palta los carotenoides disminuyen mientras, que durante la

extracción de aceite estos se elevan esto debido a la temperatura y presión. Los resultados obtenidos se asemejan a los citados por la referencia bibliográfica.

En el cuadro 9 se aprecia que existe diferencia en la comparación de las muestras SPE 40 y 80°C con la muestra control. El análisis de varianza de los carotenoides totales del aceite de palta variedad Hass extraído a 400bar con 40 y 80°C, y la muestra control resultó altamente significativo ($P \leq 0.05$). Demostando que de alguna forma, el factor temperatura influye en los niveles carotenoides totales del aceite de palta.

Cuadro 9. Prueba de comparación de TUKEY para carotenoides totales.

Comparación	N	Diferencia de promedio	q	Signific. ($P \leq 0.05$)
SPE 80°C vs. Control	3	6.987	11.197	Si
SPE 40°C vs. SPE 80°C	3	2.493	3.995	No
SPE 40°C vs. Control	3	4.495	7.203	Si

*SPE: Extracción de fluidos supercríticos.

4.3.3. Clorofila-a

Los resultados de la figura 7, indican que el aceite extraído a 400 bar y 80°C resultó con un valor de 55.5 ± 5.5 mg clorofila-a/Kg de muestra, mientras que el aceite extraído a 400 bar y 40°C arrojó 41.3 ± 1.9 mg clorofila-a/Kg de muestra y la muestra de aceite comercial control resultó con un valor de 45.5 ± 2.6 mg clorofila-a/Kg de muestra.

Con respecto a la referencia bibliográfica el aceite de palta Hass extraído mediante prensado en frío, según Ashton *et al.* (2006) tiene un valor de 37

mg clorofila-a/kg de muestra, mientras que para Wong *et al.* (2008) reporta 35 mg clorofila-a/kg de muestra. No obstante la concentración de clorofila depende de la temporada, madurez en la cosecha y la duración del almacenamiento de la fruta (Culver & Wrolstd, 2006).

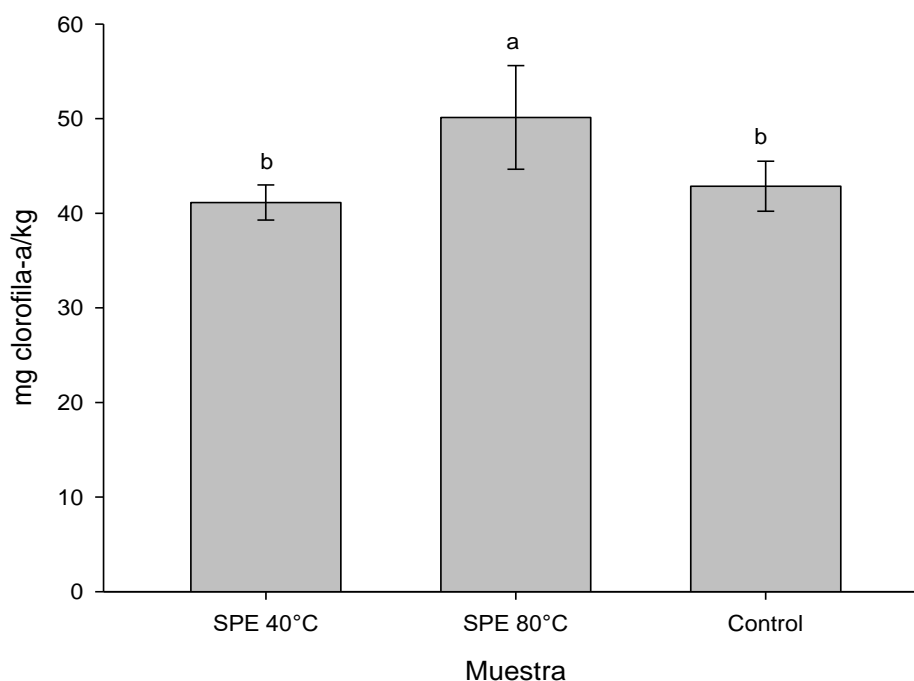


Figura 7. Clorofila en aceite de palta variedad Hass y muestra control.

Los resultados obtenidos en el presente trabajo se aproximan a los valores reportados previamente. Mientras que Moreau & Kamal-Eldin (2008) menciona que el aceite de palta extraído por prensado en frío y de otras variedades contienen entre 2 a 9.5 Clorofila-a/kg de muestra. Gunstone (2011) refiere que el aceite de palta contiene clorofila entre 11.1 a 18.5mg /kg, mientras que Qin & Zhong (2016) menciona que el aceite de palta contiene clorofila entre 22.3 a 69.8 mg/kg. Dichos resultados difieren de los resultados obtenidos en el presente trabajo.

En el cuadro 10 la muestra SPE 40°C comparado con la muestra SPE 80° y la muestra SPE comparado con la muestra control resultaron diferentes. El análisis de varianza de la clorofila-a del aceite de palta variedad Hass extraído a 400bar con 40 y 80°C, y la muestra control (aceite extraído mediante prensado en frio). Resultó altamente significativo ($P \leq 0.05$), lo que demuestra que el factor temperatura influye en los niveles de clorofila-a.

Cuadro 10. Prueba de comparacion de TUKEY para clorofila-a.

Comparación	N	Diferencia de promedio	q	Signific. ($P \leq 0.05$)
SPE 80°C vs. SPE 40°C	3	14.194	8.505	Si
SPE 80°C vs. Control	3	9.999	5.991	Si
Control vs. SPE 40°C	3	4.195	2.514	No

*SPE: Extraccion de fluidos supercriticos.

4.3.4. Capacidad antioxidante.

En figura 8 el aceite extraído a 400 bar y 80°C resulto con mayor valor ($171.6 \pm 6.4 \mu\text{mol TE}/100 \text{ g}$) en capacidad antioxidante, mientras que el aceite extraído a 400 bar y 40°C resulto con menor valor ($139.5 \pm 6.8 \mu\text{mol TE}/100 \text{ g}$) en tanto, el resultado de la muestra control ($148.1 \pm 10.4 \mu\text{mol TE}/100 \text{ g}$) fue diferentes entre las dos muestras extraídas mediante dióxido de carbono supercrítico. Los resultados demuestran que el aceite extraído a 400 bar y 80°C resulto con mayor valor en capacidad antioxidante en relación a las demás muestras experimentadas. Según Abaide *et al.* (2017) en extracción de aceite de palta mediante CO_2

supercrítico la presión y temperatura mejoran la capacidad antioxidante del aceite de palta, lo que corroboran los resultados del presente estudio. En extracción termo mecánica de aceite de palta variedad Hass descrito por Yepes *et al.* (2017), el valor de capacidad antioxidante mediante el método ORAC es 518 ± 14 μm Trolox/100g, resultando superior a los resultados obtenidos en el presente trabajo.

En el cuadro 11 la muestra SPE 40°C con SPE 80°C y Control con SPE 80°C resultaron diferentes. En cuanto al análisis de varianza de la capacidad antioxidante del aceite de palta variedad Hass extraído a 400bar con 40 y 80°C, y la muestra control, resultó altamente significativo ($P \leq 0.05$), lo que demuestra que los niveles variación de capacidad antioxidante dependen de alguna manera de la temperatura de extracción del aceite.

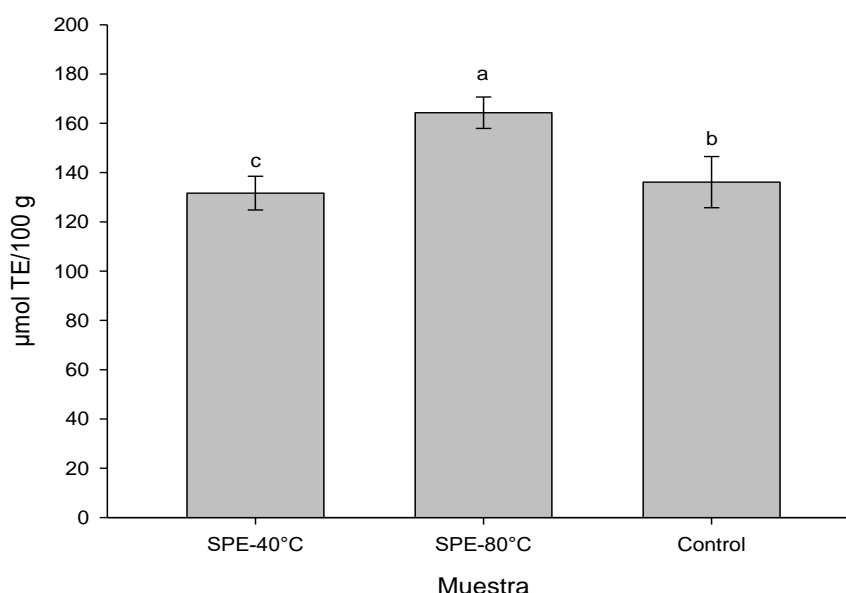


Figura 8. Capacidad antioxidante en aceite de palta variedad Hass y muestra control.

Cuadro 11. Prueba de comparacion de TUKEY para capacidad antioxidante.

Comparación	N	Diferencia de promedio	q	Signific. (P≤0.05)
SPE 80°C vs. SPE 40°C	3	32.312	8.907	Si
SPE 80°C vs. Control	3	23.502	6.478	Si
Control vs. SPE 40°C	3	8.810	2.428	No

*SPE: Extraccion de fluidos supercriticos.

4.4. ESTABILIDAD DEL ACEITE DE PALTA.

En el cuadro 12 se aprecia los resultados del promedio de estabilidad del aceite de palta evaluada en el sistema OXITEST.

Cuadro 12. Periodo de inducción (IP) en prueba de estabilidad de aceite de palta

Reactor	Aceite SPE-40°C (h:m)	Aceite SPE-80°C (h:m)	Muestra control (h:m)
A	3.31	9.32	29.09
B	3.32	9.38	29.40
Promedio	3.315±0.007	9.35±0.04	29.25±0.22

*SPE: Extraccion de fluidos supercriticos.

El periodo de inducción (IP), es una medida de estabilidad del aceite, refleja la caída de presión de O₂ debido al consumo de oxigeno por oxidación de los lípidos de las muestras de aceite. Los valores obtenidos en el presente trabajo demuestran que el aceite comercial considerado como muestra control (IP

29.25±22) resulto con mayor resistencia a la oxidación durante la vida de la muestra, seguido del aceite extraído a 400 bar y 80°C (IP 9.35±0.04) y la que resulto con menor estabilidad fue el aceite extraído a 400bar y 40°C (IP3.315±0.007).

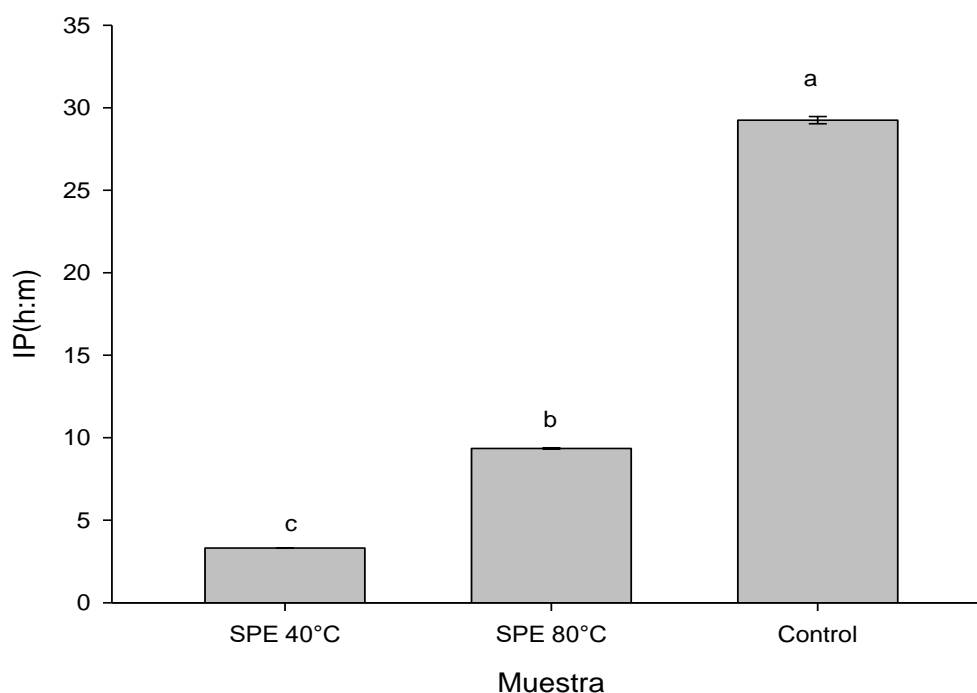


Figura 9. Periodo de induccion (IP) de prueba de estabilidad de aceite de palta.

El sistema Oxitest permite obtener una curva de oxidación caracterizada por un periodo de inducción que mide como el tiempo requerido para iniciar el proceso de oxidación de lípidos y en la Figura 10 se observa la caída de la curva de estabilidad de los aceites, el IP de aceite extraído a 400 bar y 40°C se redujo considerablemente en relación al aceite extraído a 400 bar y 80°C. La caída de la curva demuestra el cambio de la presión dentro de las dos cámaras y la absorción de oxígeno de los componentes oxidables de la muestra, entre ellas los lípidos (Comandini *et al.*, 2009).

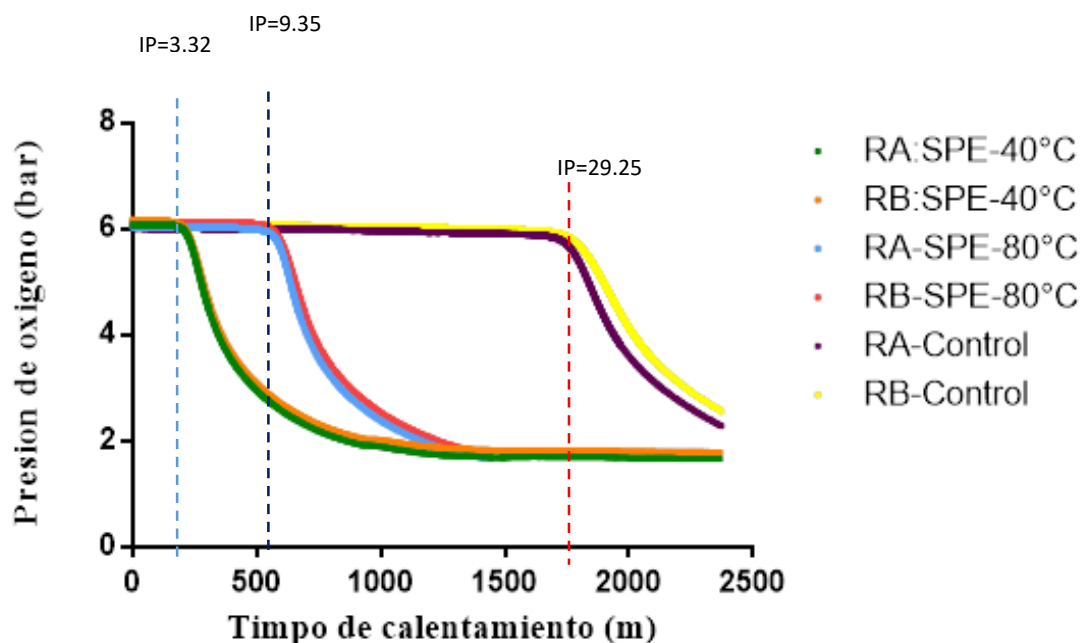


Figura 10. Estabilidad de aceite de palta.

Nota: RA-SPE-40°C (Aceite de palta extraído a 40°C evaluado en reactor A), RB-SPE-40°C (Aceite de palta extraído a 40°C evaluado en reactor B), RA-SPE-80°C (Aceite de palta extraído a 80°C evaluado en reactor A), RB-SPE-80°C (Aceite de palta extraído a 80°C evaluado en reactor B), RA-control (Aceite comercial evaluado en reactor A), RB-control (Aceite comercial evaluado en reactor B).

La oxidación lipídica se asocia con la formación de mal olor y mal sabor que comprometen la aceptabilidad de los productos, esta reacción afecta la calidad de los alimentos, en particular el contenido de ácidos grasos (Caruso *et al.*, 2016). El aceite de palta tiene buena estabilidad oxidativa que otros aceites vegetales debido a su bajo contenido de grasa no saturada y son particularmente resistente a la oxidación debido a la alta contenido de polifenoles y tocoferoles (Martinez *et al.*, 2014), lo que reafirma Berasategi *et al.* (2011) en el estudio comparativo de estabilidad del aceite de palta y oliva.

Los resultados obtenidos en el presente trabajo de alguna forma se relacionan respecto a la referencia bibliográfica que se menciona que la clorofila presente

en el aceite de palta actúa como un fotosensibilizador que promueve la oxidación, mientras que los carotenoides son inhibidores de la oxidación y se consideran antifotooxidante por enfriamiento del oxígeno, la protección depende de las condiciones de almacenamiento (Moreau & Kamal-Eldin, 2008). La clorofila se estimula por la exposición a la luz y reacciona con los lípidos para formar intermedios de oxidación que puede reaccionar aún más para formar radicales libres y productos de degradación de la oxidación que se traduce en la descomposición de pigmentos de clorofila en el aceite (Hamilton, 1994). La presencia de oxígeno también tiene una influencia significativa en la estabilidad oxidativa del aceite de palta, tanto la fotooxidación como la autooxidación se promueven con los pequeños aumentos en el oxígeno; en tanto, el aumento de la temperatura tiene mayor incidencia en reacciones de autooxidación (Moreau & Kamal-Eldin, 2008).

Los resultados del análisis de varianza de la estabilidad del aceite de palta variedad Hass extraído a 400bar con 40 y 80°C, y la muestra control (Aceite extraído por presión por frio). Resultó altamente significativo ($P \leq 0.05$), demostrando que la temperatura durante el proceso de extracción influye en la estabilidad del aceite de palta. En cuanto a la comparación de muestras los resultados indican que las diferencias en los valores medianos entre los grupos de tratamiento no son lo suficientemente grandes como para excluir la posibilidad de que la diferencia se deba a la variabilidad de muestreo aleatorio; no hay una diferencia estadísticamente significativa.

CONCLUSIONES

- La palta presentó buena madurez con respecto a los porcentajes de materia seca (29.9%).
- El rendimiento del aceite fue similar en las muestras extraídas a 400 bar a 80°C y 40°C usando dióxido de carbono supercrítico (39.07% y 38.45%). Los colores decrecen de verde oscuro a verde pálido con tonalidad amarillo.
- El aceite extraído a 400bar y 80°C resultó con mayor valor en compuestos fenólicos totales (75.4 ± 2.4 mg GAE/kg), carotenoides totales (24.8 ± 1.6 mg caroteno/kg), clorofila (55.5 ± 5.5 mg clorofila-a/kg) y actividad antioxidante (171.6 ± 6.4 μ mol TE/100g).
- El aceite extraído a 400 bar y 80°C presentó mayor estabilidad (IP= 9.35 ± 0.04 h:m) que el aceite extraído a 400 bar y 40°C (IP= 3.31 ± 0.007 h:m).

RECOMENDACIONES

Se recomienda realizar estudio sobre determinación de ácidos grasos en el aceite de palta variedad Hass extraído mediante dióxido de carbono supercrítico.

BIBLIOGRAFIA

- Abaide, E.R., Zobot, G.L., Tres, M.V., Martins, R.F., Fagundez, J.L., & Nunes L.F. (2017). Composition and antioxidant activity of avocado pulp oil extracted by pressurized fluids. *Food and Bioproducts Processing*.102, 289-98.
- Aliakbarzadeh, G., Sereshti, H., & Parastar, H. (2016). Fatty acids profiling of avocado seed and pulp using gas chromatography–mass spectrometry combined with multivariate chemometric techniques. *Iranian Chemical Society*.
- Araujo, R., Rodríguez-Jasso, R., Ruiz, H., Pintado, M & Aguilar, N. (2017). Avocado By-products: nutritional and functional properties. *Trends in food Science & Technology*. SO924-2244(17)30643-X.
- Arranz, S. (2010). Compuestos Polifenolicos (Extraíbles y no extraíbles) en alimentos de la dieta española: método para su determinación e identificación. Universidad Complutense de Madrid. España. pp 5.

- Ashton, O., Wong, M., Mcghie, T., Vather, R., Wang, Y., Requejo-Jackman, C., Ramankutty, P. & Woolf, A. (2006). Pigments in avocado tissue and oil. *Agricultural and food chemistry*. 54, 10151-10158.
- Astudio-Ordonez, C. & Rodriguez, P. (2018). Parametros fisicoquimicos del aguacate Persea Americana Mill. Cv. Hass (Laureaceae) producido en Antioquia (Colombia) para exportación. *Corpoica Cienc Tecnol Agropecuaria*, Mosquera (Colombia) 19(2):393-402
- Barros, H., Grimaldi, R. & Cabral, F. (2016). Lycopene-rich avocado oil obtained by simultaneous supercritical extraction from avocado pul and tomato pomace. *The journal of supercritical fluids*. 120.1-6
- Berasategi, I., Barriuso, B., Ansorena, D. & Astiasaran, I. (2011). Stability of avocado oil during heating: Comparative study to olive oil. *Food Chemistry*. 132-439-446.
- Berk, Z. (2009). Food Process Engineering and Technology. ESEVIER. Pp. 261-275
- Blakey, R. (2016). Evaluation of avocado fruit maturity with a portable near-infrared spectrometer. *Postharvest Biology and Technology*. 121-101-105.
- Blakey, R.J., Tesfay, S.Z., Bertling, I., & Bower, P. (2014). Ripening physiology and quality of 'Hass' avocado (Persea americana Mill.) after cold storage at 1°C. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*. 89, 6,655-662.

- Blakey, R.J., Tesfay, S.Z., Bertling, I., & Bower, P. (2015). Changes in sugars, total protein, and oil in 'Hass' avocado (*Persea americana* Mill.) fruit during ripening. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*. 87,4, 381-387.
- Bouarroudj, K., Tamendjari, A. & Larbat, R. (2015). Quality, composition and antioxidant activity of Algerian Wild Olive (*Olea europea* L. subsp. *Oleaster*) oil. *Industrial Crops and products*. 0926-6690.
- Buelvas, G.A., Patiño, J.H. & Cano, J.A. (2012). Evaluación del proceso de extracción de aceite de aguacate Hass (*Persea americana* Mill) utilizando tratamiento enzimático. *Revista lasallista*. 9,2 pp 138-150.
- Caruso, M., Galgano, F., Colangelo, M., Codelli, N., Scarpa, T., Tolve, R. & Favati, R. (2016). Evaluation of oxidative stability of baker products by OXITEST method and sensory analysis. *Eur Food Res Technol*. Verlag Belin Heidelberg.
- Cerdas, M., Montero, M. & Diaz, E. (2006). Manual de manejo pre y postcosecha de aguacate. Centro de Investigaciones Agronómicas Universidad de Costa Rica. Pp.31
- Cheftel, J. & Cheftel, H. (1995). Introducción a la bioquímica y tecnología de los alimentos. Editorial Acribia. Zaragoza – España. Pp. 137.
- Codex Alimentario (2013). Norma del Codex para el aguacate. Codex stan197. pp. 2
- Comandini, P., Verardo, V., Maiocchi, P. & Cobani, M. (2009). Accelerated oxidation: Comparative study of a new reactor with oxidation stability

instrument. *Eur J Lipid Sci Technol.* 933-940.

- Corzzini, S.C.S., Barros, H.D.F.Q., Grimaldi, R., Cabral, F.A. (2017). Extraction of edible avocado oil using supercritical CO₂ and a CO₂/ethanol mixture as solvents. *Journal of Food Engineering.*194-40-5.
- Costa, R. (2011). Extracción enzimática y caracterización del aceite de palta (*Persea Americana Mill*). Universidad de Chile. Santiago-Chile.
- Cox, K.A., Mcghie, T.K., White, A. & Woolf, A.B. (2004). Skin colour and pigment changes during ripening of “Haas” avocado fruit. *Postharvest Biol. Technol.* 31, 287–294.
- Crozier, A., Jaganath, I., & Clifford, M. (2007). Phenols, Polyphenols and Tannins: An Overview. *ResearchGate*.
- Culver, C. & Wrolstad, R. (2006). Color Quality of Fresh and Processed Foods. American Chemical Society, Washington, DC. Pp328– 375.
- Defilippi, B., Ferreyra, R. & Rivera, S. (2015). Optimización De La Calidad De Palta Hass. Instituto de Investigacion Agropecuarias. Chile.
- Di Stefano, V., Avellone, G., Bongiorno, D., Indelicato, S., Massenti, R. & Lo Bianco, R. (2016). Quantitative evaluation of the phenolic profile in fruits of six avocado (*Persea americana*) cultivars by UHPLC-HESI-MS. *International journal of food properties.* 12:08-225.
- Doradea, J. (2013). Evaluacion del rendimiento y calidad del aceite fijo de pulpa de aguacate obtenido por presión en frio en función del proceso de secado. Tesis. Universidad San Carlos de Guatemala.

- Dreher, M. & Davenport, A. (2012). Hass avocado composition and potential health effects. *Food Science and Nutrition*. 53:7, 738-750.
- Dreher, M. & Davenport, A. (2013). Hass Avocado Composition and Potential Health Effects. *Food Science and Nutrition*. 53:7-738-750.
- Elena, D., Barros, J., Coutinho, R., Helena, G., Godoy, F. & Cabral, F. (2015). Simultaneous extraction of edible oil from avocado and capsanthin from red bell pepper using supercritical carbon dioxide as solvent. *J. of Supercritical fluids*. So896-8446(15)30138-8.
- Esteban, P. (1993). Estimación del contenido de aceite a través de la humedad y su relación con la palatabilidad en frutos de palto de la variedad negra de la cruz, bacon, edranol y hass desde la última etapa de desarrollo hasta la madurez fisiológica. Quillota – Chile.
- FAO - Food And Agriculture Organization (2004). Avocado post-harvest operations. INPhO- Post-harvest compendium. Pp. 19.
- Farr, W. & Proctor, A. (2014). Green Vegetable Oil Processing. Revised First Edition. AOCS PRESS Urbana Illinois. E.E.U.U. pp13.
- Fennema, O. (2000). Química de los alimentos. Segunda edición. Editorial Acribia. Zaragoza – España. Pp. 801-803.
- Frank, H., Young, A., Britton, G. & Cogdell, R. (1999). The Photochemistry of Carotenoids. Kluwer academic publishers. New York. EE.UU.
- Gil, G. (2001). Madurez de la fruta y manejo postcosecha. Ediciones Universidad Catolica de Chile. pp. 238 – 242.

- Gonzales, F. 2010. Caracterización de compuestos fenólicos presentes en la semilla y aceite de chía (*Salvia hispánica* L.) mediante electroforesis capilar. Tesis. Universidad Politécnica Nacional. México, D.F.
- Gopal, K. & Mirillon, J. (2013). Natural Products - Phytochemistry, Botany and metabolism of Alkaloids, Phenolics and Terpenes. Springer Heidelberg New York Dordrecht London. pp. 2491.
- Gross, J. (1991). Pigments in Vegetables Chlorophylls and Carotenoids. Springer Science. New York. EE.UU.
- Gunstone, F. (2011). Vegetable Oils in Food Technology Composition, Properties and Uses. Second Edition. WILEY-BLACKWELL. India. Pp.315.
- Holt, B. (2016). Vegetable Oil. Properties, Uses and Benefits. Nova Publishers. New York. EE.UU.
- Huang, H., Ho, Y., Lim, J., Chang, T., Ho, C. & Chang, T. (2015). Investigation of the anti-melanogenic and antioxidant characteristics of *Eucalyptus camaldulensis* Flower Essential and Determination of its ChemicalComposition. *Molecular Sciences*. 16,10470-10490.
- Inanc, A. (2011). Chlorophyll: Structural Properties, Healthbenefits and Its Occurrence in Virgin olive Oils. *SIDAS MEDYA*. 1304-7582.
- INTA-Instituto de Nutricion y Tecnologia de los Alimentos. (2018). [en línea] Santiago Chile. Perú. < <http://www.portalantioxidantes.com/>> [consulta: 15 junio 2018].

- ISFV- International Standardisation of Fruit and Vegetables (2004). Avocados. OECD. Paris – France. Pp. 73.
- Jara, F. (2007). Comparación del periodo de madurez en palta Hass en cinco zonas productoras de Chile (temporadas 2003-2005). Pontificia Universidad Católica de Valparaíso. Chile.
- Kalua, C.M., Allen, M.S., Bedgood, D.R., Bishop, A.G. & Prenzler P.D.(2005). Discrimination of olive oils and fruits into cultivars and maturity stages based on phenolic and volatile compounds. *J. Agric. Food Chem.* 53, 8054–8062.
- Keiser, C. & Wolstenholme, N. (2015). Aspects of delayed harvest of Hass avocado (*Persea americana* Mill) fruit in a cool subtropical climate. I. Fruit lipid and fatty acid accumulation. *Journal of Horticultural Science*, 69:3, 437-445.
- Koseoglu, O., Sevim, D., & Kadiroglu, P. (2016). Quality characteristics and antioxidant properties of Turkish monovarietal olive oils regarding stages of olive ripening. *Food Chemistry*. 212, 628-34.
- Krinsky, N., Mayne, S. & Sies, H. (2004). Crotenoids in Health and Disease. Marcel Dekker. New York. EE.UU.
- Kupper, H., Seibert, S. and Parameswaran, A. (2007). Fast, sensitive, and inexpensive alternative to analytical pigment HPLC: quantification of chlorophylls and carotenoids in crude extracts by fitting with Gauss peak spectra. *Anal Chem*, 79(20): p. 7611-27.
- Landrum, J. (2010). Carotenoids – Physical, Chemical, and Biological Functions and properties. CRC Press -Taylor & Francis Group. New York. EE.UU.

- Lichtenthale, Hk. (1987). Chlorolphylls and Carotenoids: Pigments of Photosynthetic Biomembranes. *Method in Enzymology*.184:350-82.
- Lopez, J. (2014). Extracción y evaluación sensorial de aceite tipo gourmet de aguacate Hass (*Olea americana* Mill. Var. 'Hass'). Universidad José Matías Delgado. El Salvador.
- Lu, Q.Y., Arteaga, J.R., Zhang, Q.F., Huerta, S., Go, V.L.W., & Heber, D. (2005). Inhibition of prostate cáncer cell growth by an avocado extract: role of lipid-soluble bioactive substances. *J. Nutr. Biochem.* 16, 23–30.
- Mageshni, R., Roshila M., Sreekanth, B. (2012). Fatty acid profile and elemental content of avocado (*Persea americana* Mill.) oil - effect of extraction methods *Journal of Environmental Science and Health. Part B: Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes*, 47:6, 529-537.
- Meyer, M. & Terry, L. (2008). Development of a Rapid Method For The Sequential Extraction And Subsequent Quantification Of Fatty Acids And Sugars From Avocado Mesocarp Tissue. *Agricultural and Food Chemistry*. 56-7439-7445.
- Minguez-Mosquera, I., Rejano-Navarro, L. & Gandul-Rojas, B. (1991). Color-pigment correlation in virgin olive oil. *American oil chemists society*. 68, 5, 332-336.
- MINSA - Ministerio De Salud Del Perú. (2009). Tablas peruanas de composición de alimentos, octava edición. MINSA-INS. Lima-Perú.
- Moreau, R.A. & Kamal-Eldin, A. (2008). Gourmet and Health-promoting Specialty. AOCs PRESS. Urbana Illinois. pp. 73 – 120.

- Mostert, M.E., Botha, B.M., Du Plessis, L.M. & Duodu, K.G. (2007). Effect of fruit ripeness and method of fruit drying on the extractability of avocado oil with hexane and supercritical carbon dioxide. *J. Sci. Food Agric.* 87, 2880–2885.
- Mukhopadhyay, M. (2000). Natural Extracts Using Supercritical Carbon Dioxide. CRC Press. New York. EE. UU.
- Onwude, D., Hashim, N., Janius, R., Mat Nawi, N., & Abdan, K. (2016). Modeling the-layer drying of fruits and vegetable: A review. *Comprehensive review in food science and food safety*. MS 20151951.
- Peñarrieta, J., Tejada, L., Mollinedo, P., Vila, J. & Bravo, J. (2014). Phenolic Compounds in Food. *Revista Boliviana de Química*. Universidad de San Andrés Bolivia.
- Pereira, G., Vianello, F., Correa, R., Da Silva, R. & Galhardo, M. (2014). Polyphenols in Fruits And Vegetable and its Effect on Human Health. *Food and Nutrition Sciences*. 1065-1082.
- Perez, P.R., Rodriguez, S. & Ramirez, R. (2005). El aceite de aguacate y sus propiedades nutricionales. e-Gnosis. Universidad de Guadalajara - México.
- Phillips, K.M., Ruggio, D.M., Toivo, J.I., Swank M.A. & Simpkins, A.H. (2002). Free and esterified sterol composition of edible oils and fats. *J. Food Composition and Analysis*. 15, 123–142.
- Qin, X. & Zhong, J. (2016). Review of Extraction techniques for Avocado Oil. *Journal of Oleo Science*. 65:11.881-88.

- Rafique, S. & Akhtar, N. (2018). Physicochemical Analysis Antioxidant Activity Of Persia American And Actinidia Deliciosa Fruit Extracts By DPPH Method. *Biomedical Reaseach*. 29(12):2459-2464.
- Ramawat, K. & Merillon, J. (2013). Phytochemistry, Botany and Metabolism of Alkaloids, Phenolics and Terpenes. *Springer Heidelberg New York*. EE.UU.
- Re, R., Pellegrini, N., Protegente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology Medicine*. 26.9:10.1231-1237.
- Rengifo, P.G. (2014). Caracterización del aceite de la semilla de palta Persea Americana Mill. Var. Hass fuerte y medición de su actividad antioxidante. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima-Peru.
- Requejo-Tapia, C. (1999). International Trends in Fresh Avocado and Avocado Oil Production and Seasonal Variation of Fatty Acids in New Zealand-grown cv. Hass. Massey University, Palmerston North, New Zealand.
- Restrepo, A.M.; Londoño, J.; Gonzales, D.; Benavides, Y. & Cardona B. L. (2014). Comparación del aceite de aguacate variedad Hass cultivado en Colombia, obtenido por fluidos supercríticos y métodos convencionales: una perspectiva desde la calidad. *Revista Lasallista de investigación*, 9(2), 151-161.
- Rimache, M. (2007), Cultivo de Paltos, Primera Edición. Empresa Editora Macro EIRL. Citado por MINAGRI 2015.
- Rodriguez, P. & Henao, J. (2016). Maduración del aguacate (Persea americana Mill. Cv. Hass) y calidad de los frutos. *Agronomía Colombiana* 34(1Supl.), S876-S879.

- Rodriguez-Carpena, J., Mocuende, D., Andrade, M.J., Kylli, P. & Estévez, M. (2011). Avocado (*Persea americana* Mill) Phenolics, in Vitro Antioxidant and Antimicrobial Activities, and Inhibition of Lipid and Protein Oxidation in Porcine Patties. *Agricultural and food Chemistry*. 59-5625-5635.
- Schffer, B., Wolstenholme, B.& Whiley, A. (2013). The Avocado. 2nd edition. CAB International. USA.
- Serpa, A., Echeverri, A., Lezcano, M., Velez, L., Rios, A. & Hincapie, G. (2014). Extracción de aceite de aguacate variedad Hass (*Persea americana* Mill) liofilizado por prensado en frio. *Revista de investigación aplicada*. Medellin – Colombia.PP113-123.
- Shahidi, F. & Naczk, M. (2004). Phenolics in Food and Nutraceuticals. *CRC PRESS*. New York Washington, D.C. EE.UU.
- Thrane, J., Kyle, M., Striebel, M., Haande, S., Grung, M., & Rohrlack, T. (2015). Spectrophotometric Analysis of Pigments: A Critical Assessment of a High-Throughput Method for Analysis of Algal Pigment Mixtures by Spectral Deconvolution. *PloS one*. 2015;10 (9):e0137645.
- Thrane, J.E., et al. (2015). Spectrophotometric Analysis of Pigments: A Critical Assessment of a High-Throughput Method for Analysis of Algal Pigment Mixtures by Spectral Deconvolution. *PLoS One*, 10(9): p. e0137645.
- Toledo, R. (2007). *Fundamentals of Food Process Engineering*. Third Edition. Springer Science. New York. EE.UU.
- USDA - United States Department Of Agriculture, (2017). Natural Resources Conservation Service. NRCS. [En línea] Washington D, C., Estados Unidos.

<<https://plants.usda.gov/java/ClassificationServlet?source=display&classid=PEAM3>> [consulta: 02 agosto 2017].

- Villa-Rodríguez, A., Molina-Corral, F., Ayala-Zavala, J., Olivas, G. & Gonzales-Aguilar, G. (2010). Effect of maturity stage on the content of fatty acids and antioxidant activity of Hass Avocado. *Food research International*. 44:1231-1237.
- Vinha, A., Moreira, J. & Barreira, S. (2013). Physicochemical Parameters, Phytochemical Composition and Antioxidant Activity of the Algarvian Avocado (*Persea americana* Mill). *Journal of Agricultural Science*. 1916-9752.
- White, A., Woolf, A.B., Hofman, P.J. & Arpaia, M.L. (2005). The International Avocado Quality Manual; HortResearch Ltd. pp. 73.
- Wong, M., Ashton, O., Requejo-Jackman, C., Mcghie, T., White, A., Eyres, L., Sherpa, N. & Woolf, A. (2008). Avocado oil: The color of quality. American Chemical society. Washington DC.
- Xiang, C., Xu, Z., Liu, J., Li, T., Yang, Z., & Ding, C. (2017). Quality, composition, and antioxidant activity of virgin olive oil from introduced varieties at Liangshan. *LWT - Food Science and Technology*. 78:226-34.
- Yepes, D., Sanchez, L., Marquez, C. (2017). Extracción termomecánica y caracterización fisicoquímica del aceite de aguacate (*Persea Americana* Mill. Cv. Hass). SENA. Centro Textile y Gestión Industrial de Medellín. Universidad Nacional de Colombia.



ANEXOS

Anexo 1. Madurez de palta variedad Hass



Figura 11. Cosecha



Figura 12. Palta seleccionada



Figura 13. Evaluación después de cosecha



Figura 14. Evaluación de palta madura



Figura 15. Secado de palta



Figura 16: Muestra seca de palta

Anexo 2. Obtención de aceite de palta variedad Hass



Figura 17. Palta (Mesocarpio)



Figura 18. Muestras congeladas



Figura 19. Liofilizado



Figura 20. Muestras Liofilizadas



Figura 21. Extracción de aceite en
Speed SFE Basic



Figura 22. Muestra de aceite de
palta variedad Hass

Anexo 3. Extracción de aceite de palta variedad Hass**a) Extracción de aceite de palta variedad Hass a 400bar y 40°C**

MUESTRA 01.		
Característica	Valor	Unidad
Flujo de CO ₂	2.5	g/min
Temperatura	40	°C
Peso de muestra	20.1	g

Tiempo (min)	Peso de Tubo (g)	Peso del Aceite (g)	Rendimiento (%)	S/F
0	35	0	0.00	0.00
20	35.1	0.1	0.50	2.49
40	35.4	0.4	1.99	4.98
60	35.7	0.7	3.48	7.46
80	38.5	3.5	17.41	9.95
100	40.4	5.4	26.87	12.44
120	41.2	6.2	30.85	14.93
140	41.9	6.9	34.33	17.41
160	42.3	7.3	36.32	19.90
180	42.6	7.6	37.81	22.39
200	42.9	7.9	39.30	24.88
220	43	8	39.80	27.36
240	43.1	8.1	40.30	29.85

MUESTRA 02.		
Característica	Valor	Unidad
Flujo de CO ₂	2.5	g/min
Temperatura	40	°C
Peso de muestra	20	g

Tiempo (min)	Peso de Tubo (g)	Peso del Aceite (g)	Rendimiento (%)	S/F
0	35	0	0.00	0.00
20	35.1	0.1	0.50	2.50
40	35.3	0.3	1.50	5.00
60	35.5	0.5	2.50	7.50
80	38.9	3.9	19.50	10.00
100	40.2	5.2	26.00	12.50
120	41.1	6.1	30.50	15.00
140	41.3	6.3	31.50	17.50
160	41.8	6.8	34.00	20.00
180	42.4	7.4	37.00	22.50
200	42.5	7.5	37.50	25.00
220	42.6	7.6	38.00	27.50
240	42.7	7.7	38.50	30.00

MUESTRA 03.		
Característica	Valor	Unidad
Flujo de CO ₂	2.5	g/min
Temperatura	40	°C
Peso de muestra(g)	20.3	g

Tiempo (min)	Peso del tubo (g)	Peso del Aceite (g)	Rendimiento (%)	S/F
0	35	0	0.00	0.00
20	35.1	0.1	0.49	2.46
40	35.4	0.4	1.97	4.93
60	35.6	0.6	2.96	7.39
80	35.7	0.7	3.45	9.85
100	40.5	5.5	27.09	12.32
120	40.9	5.9	29.06	14.78
140	41.5	6.5	32.02	17.24
160	42.2	7.2	35.47	19.70
180	42.5	7.5	36.95	22.17
200	42.6	7.6	37.44	24.63
220	42.7	7.7	37.93	27.09
240	42.8	7.8	38.42	29.56

b) Extracción de aceite de palta variedad Hass a 400bar y 80°C

MUESTRA 01.		
Característica	Valor	Unidad
Flujo de CO ₂	2.5	g/min
Temperatura	80	°C
Peso de muestra	20.4	g

Tiempo (min)	Peso de Tubo (g)	Peso del Aceite (g)	Rendimiento (%)	S/F
0	35	0	0.00	0.00
20	35.1	0.1	0.49	2.45
40	35.4	0.4	1.96	4.90
60	35.6	0.6	2.94	7.35
80	38.7	3.7	18.14	9.80
100	40.7	5.7	27.94	12.25
120	41.2	6.2	30.39	14.71
140	41.7	6.7	32.84	17.16
160	42	7	34.31	19.61
180	42.7	7.7	37.75	22.06
200	42.5	7.5	36.76	24.51
220	42.8	7.8	38.24	26.96
240	42.9	7.9	38.73	29.41

MUESTRA 02.		
Característica	Valor	Unidad
Flujo de CO ₂	2.5	g/min
Temperatura	80	°C
Peso de muestra	20	g

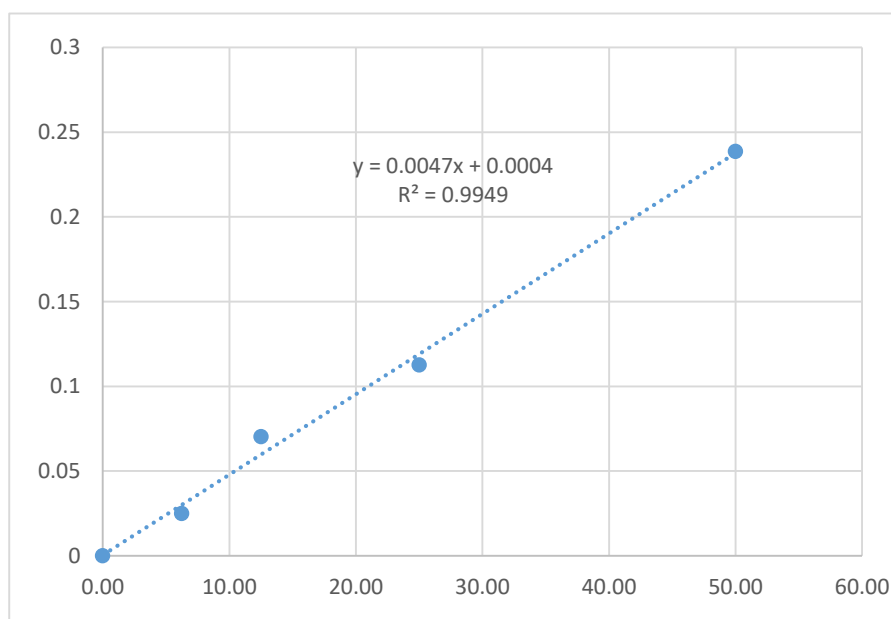
Tiempo (min)	Peso de Tubo (g)	Peso del Aceite (g)	Rendimiento (%)	S/F
0	35	0	0.00	0.00
20	35.1	0.1	0.50	2.50
40	35.3	0.3	1.50	5.00
60	35.5	0.5	2.50	7.50
80	38.9	3.9	19.50	10.00
100	40.2	5.2	26.00	12.50
120	41.1	6.1	30.50	15.00
140	41.5	6.5	32.50	17.50
160	41.9	6.9	34.50	20.00
180	42.4	7.4	37.00	22.50
200	42.5	7.5	37.50	25.00
220	42.6	7.6	38.00	27.50
240	42.7	7.7	38.50	30.00

MUESTRA 03		
Característica	Valor	Unidad
Flujo de CO ₂	2.5	g/min
Temperatura	80	°C
Peso de muestra	20.2	g

Tiempo (min)	Peso de Tubo (g)	Peso del Aceite (g)	Rendimiento (%)	S/F
0	35	0	0.00	0.00
20	35.1	0.1	0.50	2.48
40	35.2	0.2	0.99	4.95
60	35.4	0.4	1.98	7.43
80	39	4	19.80	9.90
100	40.2	5.2	25.74	12.38
120	41.1	6.1	30.20	14.85
140	41.5	6.5	32.18	17.33
160	42	7	34.65	19.80
180	42.4	7.4	36.63	22.28
200	42.5	7.5	37.13	24.75
220	42.6	7.6	37.62	27.23
240	42.7	7.7	38.12	29.70

Anexo 4. Curva de calibración para fenólicos totales

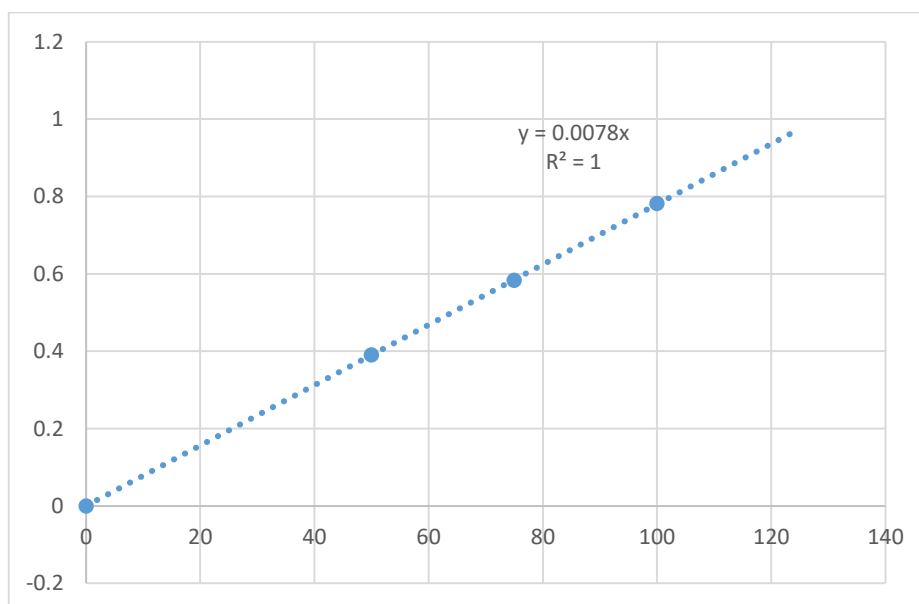
Concentración	R1	R2	R3	Promedio
0	0.064	0.065	0.064	0.06433
6.25	0.082	0.094	0.092	
12.50	0.136	0.134	0.134	
25	0.186	0.172	0.173	
50	0.294	0.31	0.305	



Anexo 5. Curva de calibración para capacidad antioxidante método ABTS

Concentración	R1	R2	R3	Promedio
0	0.4905	0.4904	0.4915	0.4908
50	0.296	0.3065	0.2955	
75	0.2074	0.2025	0.2038	
100	0.1116	0.1083	0.102	
125	0.0597	0.0642	0.066	

Inhibición			Promedio
0.00061125	0.000815	-0.00142624	-3.7007E-17
0.39690302	0.37550937	0.39792176	0.39011138
0.57742461	0.58740831	0.58475958	0.5831975
0.77261614	0.77933985	0.79217604	0.78137734
0.87836186	0.86919315	0.86552567	



Anexo 6. Características de prueba de estabilidad en sistema OXITEST**a. Aceite de palta variedad Hass extraído a 400 bar y 40°C**

Característica	Reactor A	Reactor B	Promedio
Tiempo de Test (hr:min)	39.34	39.34	39.34
Punto de ajuste de temperatura(°C)	90	90	90
Cantidad de muestra evaluada (g)	5.007	5.004	5.0055
Punto de ajuste de presión (bar)	6	6	6
Periodo de inducción (hr:min)	3.31	3.32	3.315

b. Aceite de palta variedad Hass extraído a 400 bar y 80°C.

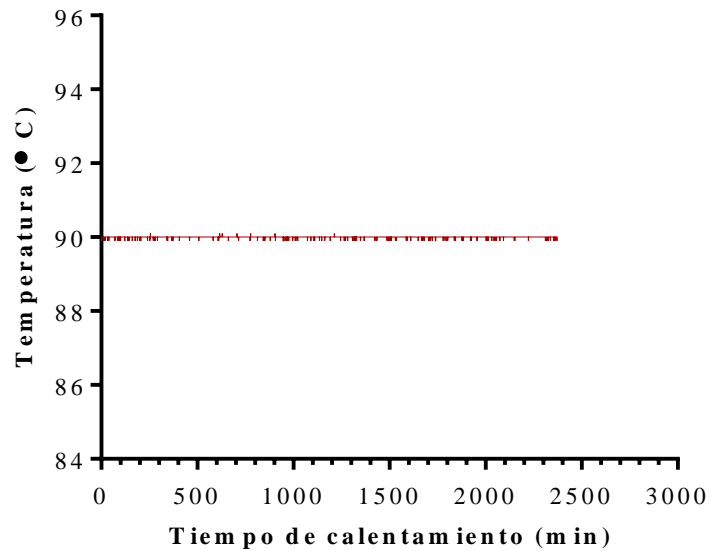
Característica	Reactor A	Reactor B	Promedio
Tiempo de Test (hr:min)	23.38	23.38	23.38
Punto de ajuste de temperatura(°C)	90	90	90
Cantidad de muestra evaluada (g)	5.005	5.003	5.004
Punto de ajuste de presión (bar)	6	6	6
Periodo de inducción (hr:min)	9.32	9.38	9.35

a. Aceite de palta comercial (muestra control).

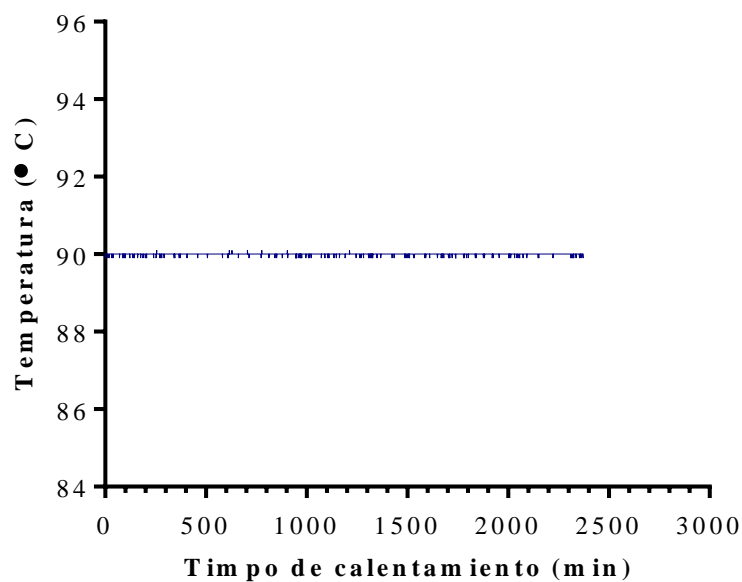
Característica	Reactor A	Reactor B	Promedio
Tiempo de Test (hr:min)	46.41	46.41	46.25
Punto de ajuste de temperatura(°C)	90	90	90
Cantidad de muestra evaluada (g)	5.001	5.001	5.001
Punto de ajuste de presión (bar)	6	6	6
Periodo de inducción (hr:min)	29.09	29.40	29.25

Anexo 7. Temperatura de prueba de estabilidad de aceite de palta

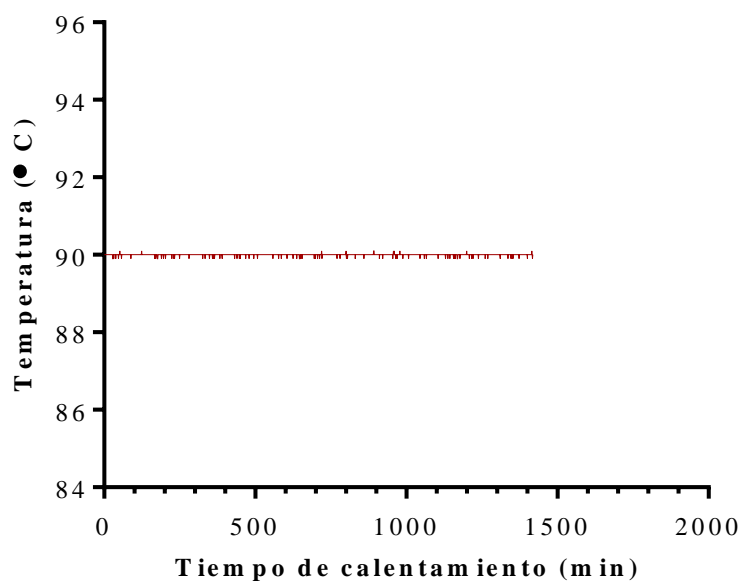
- a. Temperatura vs Tiempo de calentamiento del reactor A- 40°C, estabilidad de aceite de palta Hass.



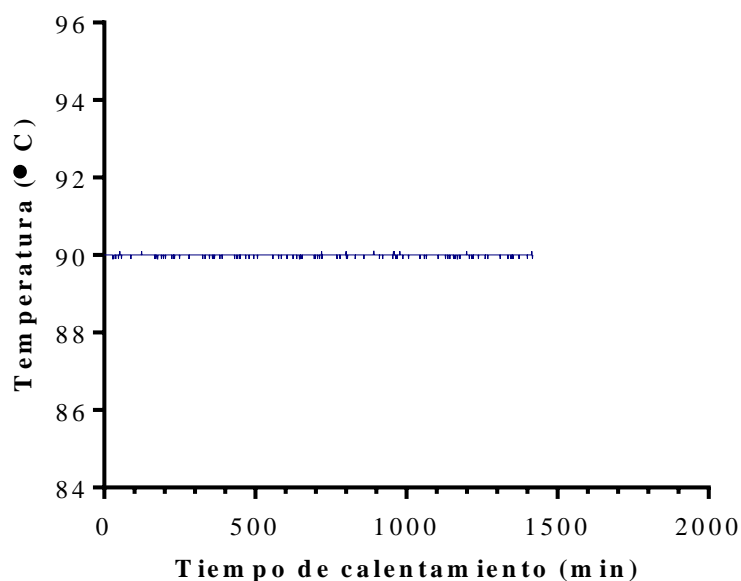
- b. Temperatura vs Tiempo de calentamiento del reactor B-40°C, estabilidad de aceite de palta variedad Hass.



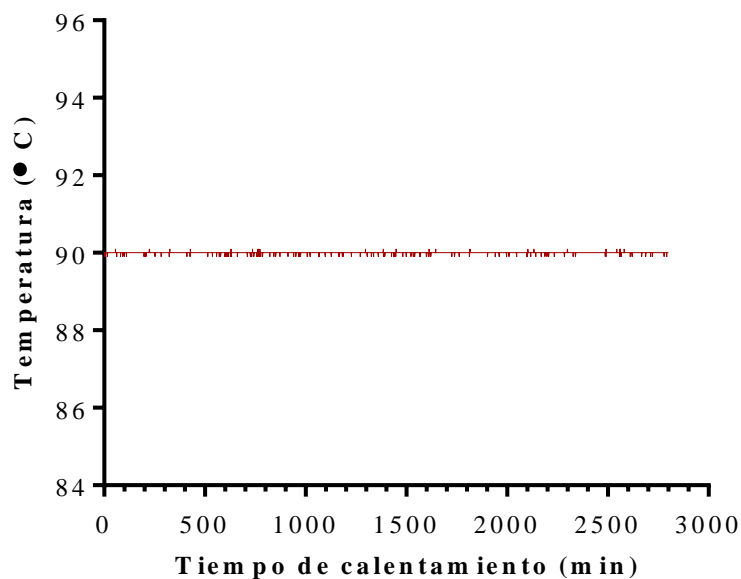
- c. Temperatura vs Tiempo de calentamiento del reactor A, estabilidad de aceite de palta variedad Hass extraído a 400 bar y 80°C.



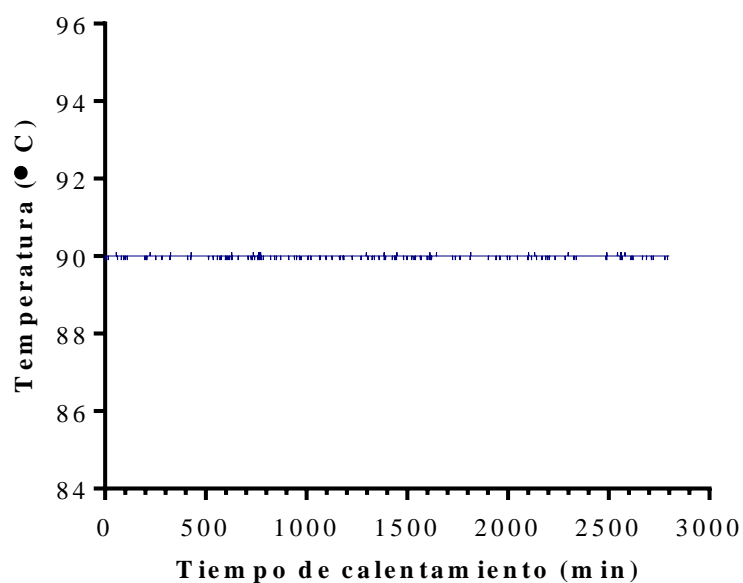
d. Temperatura vs Tiempo de calentamiento del reactor B, estabilidad de aceite de palta variedad Hass extraído a 400 bar y 80°C.



e. Temperatura vs Tiempo de calentamiento del reactor A, estabilidad de aceite de palta comercial (muestra control).

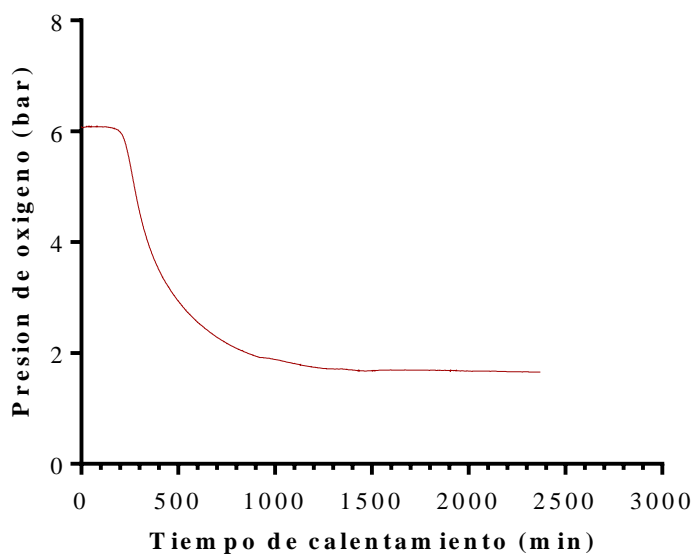


f. Temperatura vs Tiempo de calentamiento del reactor B, estabilidad de aceite de palta comercial (muestra control).

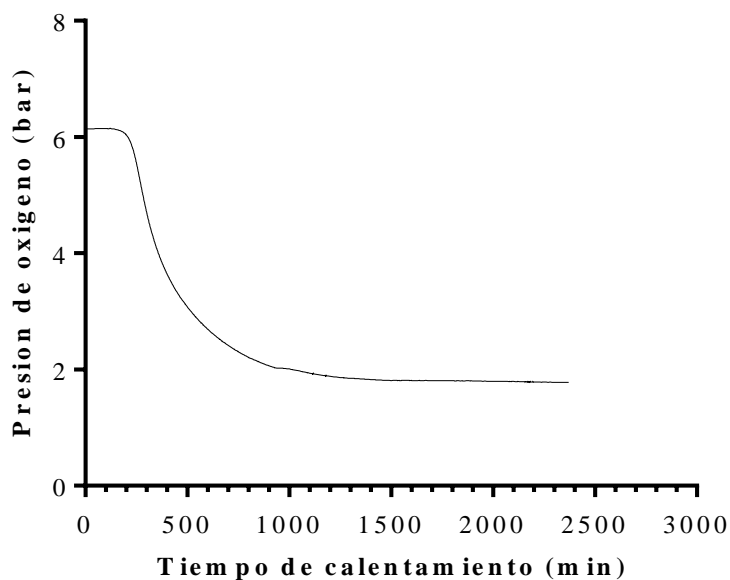


Anexo 8. Presión del oxígeno de prueba de estabilidad de aceite de palta

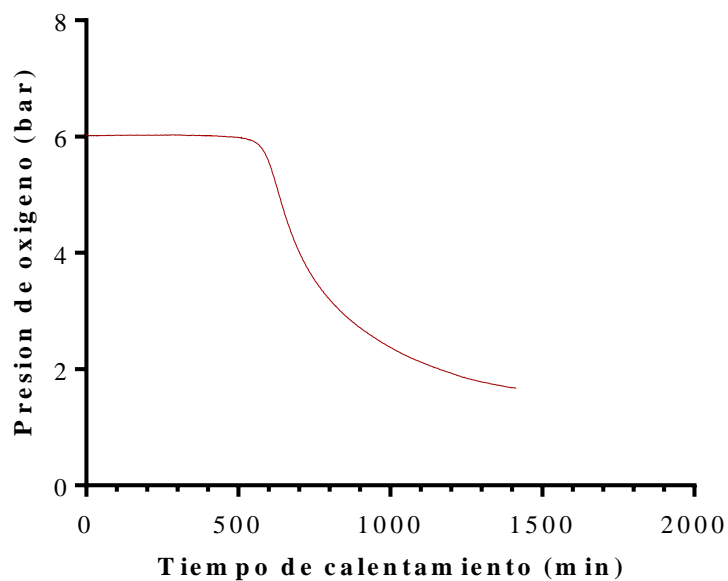
- a. Presión del oxígeno vs Tiempo de calentamiento del reactor A-40°C estabilidad de aceite de palta Hass.



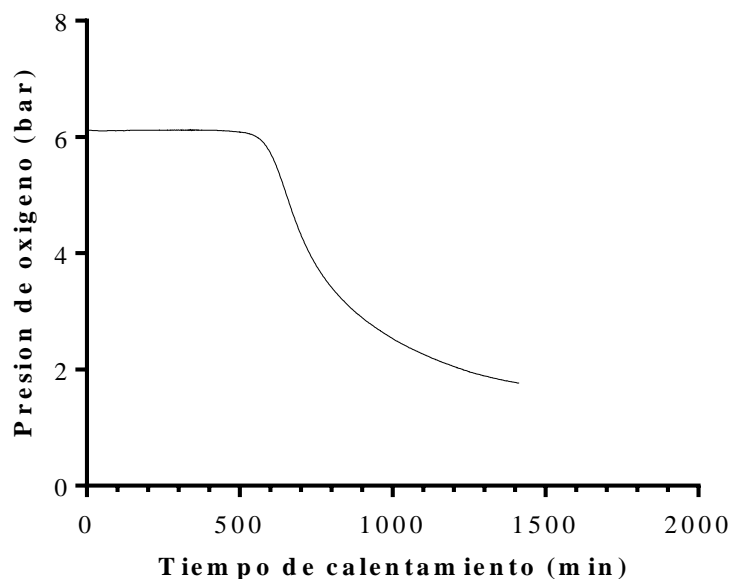
- b. Presión del oxígeno vs Tiempo de calentamiento del reactor B-40°C estabilidad de aceite de palta Hass.



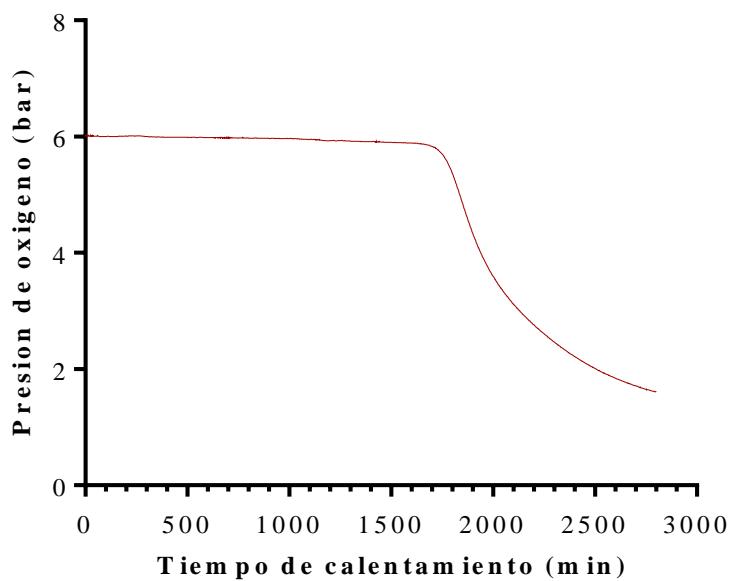
- c. Presión del oxígeno vs Tiempo de calentamiento del reactor A, estabilidad de aceite de palta variedad Hass extraído a 400 bar y 80°C.



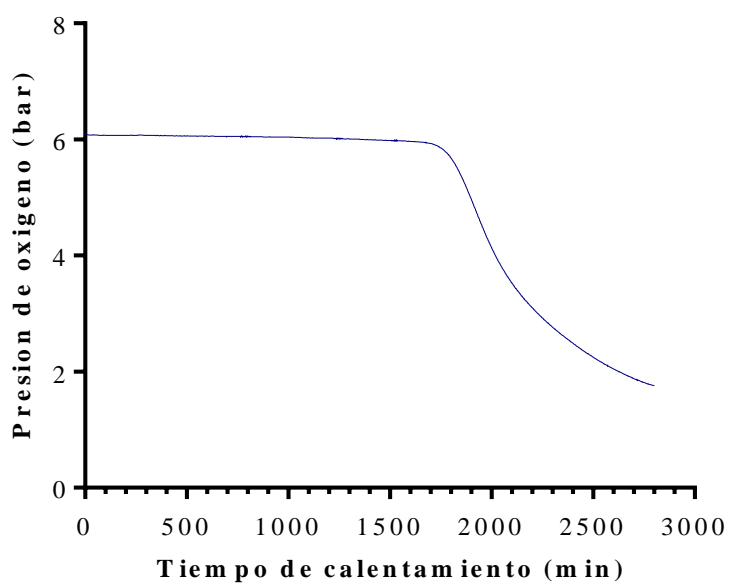
d. Presión del oxígeno vs Tiempo de calentamiento del reactor B, estabilidad de aceite de palta variedad Hass extraído a 400 bar y 80°C.



e. Presión del oxígeno vs Tiempo de calentamiento del reactor A estabilidad de aceite de palta de control.



f. Presión del oxígeno vs Tiempo de calentamiento del reactor B estabilidad de aceite de palta de control.



Anexo 9. Análisis de varianza para proceso experimenta**a) Análisis de diferencia de color(ΔE) de aceite de palta**

F. de V.	G.L.	S.C.	C.M.	Fc.	F _{0.05}	F _{0.01}	Sing.
Tipo de aceite	2	23.050	11.525	34.794	5.143	10.925	**
Error	6	1.987	0.331				
Total	8	25.038					

b) Análisis de varianza para el compuesto fenólico totales

F. de V.	G.L.	S.C.	C.M.	Fc.	F _{0.05}	F _{0.01}	Sing.
Tipo de aceite	2	694.326	347.163	51.522	5.143	10.925	**
Error	6	40.429	6.738				
Total	8	734.755					

c) Análisis de varianza para carotenoides totales.a.

F. de V.	G.L.	S.C.	C.M.	Fc.	F _{0.05}	F _{0.01}	Sing.
Tipo de aceite	2	75.239	37.619	32.619	5.143	10.925	**
Error	6	7.009	1.168				
Total	8	82.248					

d) Análisis de varianza para clorofila-a

F. de V.	G.L.	S.C.	C.M.	Fc.	F _{0.05}	F _{0.01}	Sing.
Tipo de aceite	2	319.031	159.515	19.092	5.143	10.925	**
Error	6	50.131	8.355				
Total	8	369.161					

e) Análisis de varianza para capacidad antioxidante.

F. de V.	G.L.	S.C.	C.M.	Fc.	F _{0.05}	F _{0.01}	Sing.
Tipo de aceite	2	1674.064	837.032	21.200	5.143	10.925	**
Error	6	236.894	39.482				
Total	8	1910.958					

f) Análisis de varianza para periodo de inducción.

F. de V.	G.L.	S.C.	C.M.	Fc.	F _{0.05}	F _{0.01}	Sing.
Tipo de aceite	2	736.398	368.199	22136.2	5.143	10.925	**
Error	6	0.050	0.017				
Total	8	736.448					