

OBTENCIÓN DE UN CONSERVANTE NATURAL A PARTIR DE LA SEMILLA DE
AGUACATE VARIEDAD HASS (*PERSEA AMERICANA MILL.*)

FRANK ALEXANDER AVILA RODRIGUEZ
KAREN BIBIANA GUERRERO LÓPEZ

FUNDACIÓN UNIVERSIDAD DE AMÉRICA
FACULTAD DE INGENIERÍAS
PROGRAMA DE INGENIERÍA QUÍMICA
BOGOTÁ D.C.
2019

OBTENCIÓN DE UN CONSERVANTE NATURAL A PARTIR DE LA SEMILLA DE
AGUACATE VARIEDAD HASS (*PERSEA AMERICANA MILL.*)

FRANK ALEXANDER AVILA RODRIGUEZ
KAREN BIBIANA GUERRERO LÓPEZ

Proyecto integral de grado para optar al título de:
INGENIERO QUÍMICO

Director
FELIPE CORREA MAECHA
Ingeniero Químico

FUNDACIÓN UNIVERSIDAD DE AMÉRICA
FACULTAD DE INGENIERÍAS
PROGRAMA DE INGENIERÍA QUÍMICA
BOGOTÁ D.C.
2019

Nota de aceptación:

Ing. Alexander Jiménez

Ing. Alberto Vera

Bogotá D.C, agosto de 2019

DIRECTIVAS DE LA UNIVERSIDAD

Presidente institucional y Rector del claustro

Dr. Mario Posada García Peña

Vicerrector de Desarrollo y Recursos Humanos

Dr. Luis Jaime Posada García-Peña

Vicerrectora Académica y de Posgrados

Dra. Ana Josefa Herrera Vargas

Decano Facultad de Ingenierías

Ing. Julio César Fuentes Arismendi

Director Programa de Ingeniería Química

Ing. Leonardo De Jesús Herrera Gutiérrez

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

Contenido

	pág.
RESUMEN	16
INTRODUCCIÓN	17
OBJETIVOS	18
1. MARCO TEORICO	19
1.1 AGUACATE	19
1.1.1 Clasificación taxonómica del aguacate	20
1.2 AGUACATE VARIEDAD HASS.	21
1.2.1 Fisiología del aguacate Hass.	22
1.2.2 Maduración del aguacate Hass.	23
1.2.3 Valor nutricional.	25
1.2.4 Aguacate Hass en el mundo.	26
1.2.5 Aguacate Hass en Colombia.	26
1.3 PRODUCTO SECUNDARIO PROCESADO.	28
1.3.1 Dificultades en procesar y conservar productos de aguacate.	29
1.3.2 Métodos o procesos de conservación del aguacate utilizados en el pure de aguacate y guacamole.	29
1.4 METODOS DE EXTRACCIÓN	31
1.4.1 Extracción por percolación.	31
1.4.2 Extracción por maceración.	32
1.4.3 Extracción asistida por ultrasonido.	32
1.4.4 Extracción asistida por microondas.	33
1.4.5 Extracción con líquidos presurizados (PLE).	34
1.4.6 Extracción por fluido supercrítico (SFE).	34
1.4.7 Extracción asistida por enzimas (EAE).	34
1.4.8 Extracción de campo eléctrico pulsado (PEE).	34
1.5 COMPUESTOS BIOACTIVOS	34
1.5.1 Compuestos fenólicos.	35
1.5.2 Contenido de polifenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu.	36
1.6 ANTIOXIDANTES	37
1.6.1 Antioxidantes naturales.	37
1.6.2 Antioxidantes primarios.	37
1.6.3 Antioxidantes secundarios.	38
1.6.4 Antioxidantes exógenos.	38
1.6.5 Actividad antioxidante por el método del 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH).	38
1.7 RADICALES LIBRES	39
1.8 CONSERVANTES	39
1.8.1 Conservantes químicos.	40
1.8.2 Conservantes naturales.	40

2. CARACTERIZACIÓN DE LA MATERIA PRIMA	41
2.1 DETERMINACIÓN DE PROPIEDADES DE LA MATERIA PRIMA	41
2.1.1 Determinación de peso.	42
2.1.2 Longitud y diámetro de las semillas.	42
2.1.3 Densidad Aparente.	43
2.1.4 Densidad de partícula.	44
2.1.5 Determinación de cenizas de la semilla.	45
2.1.6 Humedad.	46
2.1.7 Composición química de la semilla de aguacate variedad Hass <i>Persea americana mil.</i>	47
3. SELECCIÓN DEL MÉTODO DE EXTRACCIÓN	49
3.1 COMPARACION Y SELECCIÓN DE ALTERNATIVAS DE LOS METODOS DE EXTRACCION	49
3.2 ADECUACIÓN DE LA MUESTRA	52
3.2.1 Secado.	53
3.2.2 Molienda.	53
3.2.3 Tamizado.	55
3.3 EXTRACCIÓN POR ULTRASONIDO	56
3.3.1 Reactivos, equipos y materiales.	56
3.3.2 Condiciones de operación.	57
3.3.3 Descripción del método de extracción por ultrasonido.	58
3.3.4 Rendimiento de la extracción.	60
3.4 EXTRACCIÓN POR LIXIVIACIÓN	62
3.4.1 Reactivos, equipos y materiales.	62
3.4.2 Condiciones de operación.	62
3.4.3 Descripción del método de extracción por lixiviación.	62
3.4.4 Rendimiento de la extracción.	66
3.5 PRUEBA CUALITATIVA PARA COMPUESTOS FENÓLICOS PRESENTES EN EL EXTRACTO	67
3.5.1 Análisis fitoquímico.	67
3.6 CONTENIDO DE POLIFENOLES TOTALES	68
3.6.1 Reactivos, equipos y materiales.	68
3.6.2 Curva de calibración (ácido gálico).	68
3.6.3 Determinación del contenido de Polifenoles totales en el extracto.	69
3.7 ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE	73
3.7.1 Curva de calibración (Trolox).	73
3.7.2 Reactivos, Equipos y Materiales.	73
3.7.3 Preparación del radical DPPH.	74
3.7.4 Determinación de actividad antioxidante de los extractos.	75
3.8 ANÁLISIS COMPARATIVO ENTRE METODOS DE EXTRACCIÓN (ULTRASONIDO Y LIXIVIACIÓN)	77
4. CARACTERÍSTICAS Y DESEMPEÑO DEL ANTIOXIDANTE OBTENIDO	80
4.1 ENZIMAS EN LOS ALIMENTOS	80

4.1.1 Pardeamiento enzimático.	81
4.2 CARACTERIZACIÓN CINÉTICA DE LA ENZIMA POLIFENOLOXIDASA (Persea americana Miller) VAR. HASS.	81
4.2.1 Estudio cinético.	84
4.2.2 Estudio cinético de la polifenoloxidasas con conservante.	85
4.2.3 Modelo cinético enzimático Michaelis-Menten.	86
4.2.4 Modelo Michaelis-Menten	87
4.2.5 Linealización de Lineweaver-Burk.	87
4.3 DEFINICIONES DE LOS PARÁMETROS SENSORIALES UTILIZADOS EN LA INVESTIGACIÓN Y PARAMETROS FISICOQUÍMICOS.	89
4.3.1 Ácido titulable.	90
4.3.2 pH.	91
4.3.3 Análisis organoléptico	92
4.4 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO	101
4.4.1 Preparación del medio de cultivo de Agar Mueller- Hinton.	102
4.4.2 Inóculo.	102
4.4.3 Siembra de la muestra.	103
5. FACTIBILIDAD FINANCIERA DEL PROCESO DE OBTENCIÓN DEL ANTIOXIDANTE PARTIENDO DE LOS RESIDUOS DE SEMILLA DE AGUACATE VARIEDAD HASS	105
5.1 DIAGRAMA DE PROCESO PARA LA EXTRACCIÓN DEL CONSERVANTE NATURAL	105
5.2 BALANCES PRELIMINARES DE MATERIA	108
5.2.1 Balance global de materia.	108
5.2.2 Balance de materia para el proceso de lavado.	108
5.2.3 Balance de materia para el proceso de secado.	110
5.2.4 Balance de materia para el proceso de molienda.	111
5.2.5 Balance de materia para el proceso de extracción.	111
5.2.6 Balance de materia en el proceso de filtrado.	112
5.2.7 Balance de materia en el proceso de secado por aspersión.	113
5.2.8 Balance de materia para el proceso de evaporación.	114
5.2.9 Balance de materia para el proceso de mezcla.	114
5.3 EQUIPOS	115
5.3.1 Lavado.	115
5.3.2 Secado.	116
5.3.3 Molienda.	117
5.3.4 Extracción.	118
5.3.5 Filtración.	119
5.3.6 Secado por aspersión.	119
5.3.7 Evaporación.	121
5.4 ANÁLISIS PRELIMINAR FINANCIERO DEL PROYECTO	121
5.4.1 Estudio Económico.	122
5.4.2 Costos de producción.	124
5.4.3 Inversión inicial.	127

5.4.4 Financiación (tabla amortización).	127
5.4.5 Flujo de caja.	127
5.4.6 El criterio del Valor Presente Neto.	129
5.4.7 TIO (tasa interna de oportunidad).	129
5.4.8 TIR (tasa interna de retorno).	129
5.4.9 Indicadores económicos.	130
5.4.10 Ingresos operacionales.	130
6. CONCLUSIONES	132
7. RECOMENDACIONES	134
BIBLIOGRAFÍA	144
ANEXO	147

LISTA DE ILUSTRACIONES

	pág.
Ilustración 1. Influencia de la altura sobre la forma y	22
Ilustración 2. Descripción del aguacate	23
Ilustración 3. Color de epicarpio según estado de maduración.	24
Ilustración 4. Producto procesado, guacamole	29
Ilustración 5. Mecanismo de liberación de componentes	33
Ilustración 6. Mecanismo de acción del reactivo de Folin-Ciocalteu	36
Ilustración 7. Mecanismo de reacción del radical DPPH	39
Ilustración 8. Residuo de semilla empacada al vacío	41
Ilustración 9. Semillas seleccionadas para el estudio.	42
Ilustración 10. Probeta con	43
Ilustración 11. Probeta con	44
Ilustración 12. Cenizas de la semilla.	45
Ilustración 13. Semilla en trozos.	46
Ilustración 14. Compuestos bioactivos presentes en la semilla de aguacate variedad	48
Ilustración 15. Diagrama de proceso para la adecuación de la semilla	53
Ilustración 16. Corte de semillas de aguacate	53
Ilustración 17. Obtención de harina de semilla	54
Ilustración 18. Unidad de tamizado.	55
Ilustración 19. Equipo de ultrasonido.	57
Ilustración 20. Rotaevaporador.	57
Ilustración 21. Diagrama de proceso de extracción por el método de ultrasonido.	59
Ilustración 22. Extracto	60
Ilustración 23. Granulometría.	63
Ilustración 24. Montaje primer día	64
Ilustración 25. Recirculación final	64
Ilustración 26. Diagrama de proceso de extracción por el método de lixiviación.	65
Ilustración 27. Análisis Fitoquímico de los extractos obtenidos	67
Ilustración 28. Determinación de Polifenoles totales por Espectrofotometría.	70
Ilustración 29. Solución DPPH	75
Ilustración 30. Diagrama de proceso de la extracción de la PPO de la pulpa de aguacate.	82
Ilustración 31. Pulpa entera.	83
Ilustración 32. Pulpa con Buffer.	83
Ilustración 33. Centrifugación	83
Ilustración 34. Filtración.	83
Ilustración 35. Filtro millipore.	83
Ilustración 36. Medio de cultivo	102
Ilustración 37. Bacteria <i>E-coli</i> .	103
Ilustración 38. Cajas de petri antes de incubar	103
Ilustración 39. Cajas de petri después de incubar durante 24 horas.	104
Ilustración 40. Diagrama de bloques del proceso de obtención del conservante.	106

Ilustración 41. Diagrama PFD (Process Flow Diagram) de obtención de conservante.	107
Ilustración 42. Diagrama global del proceso de extracción del conservante natural a partir de la semilla de aguacate Hass (<i>Persea americana mil.</i>)	108
Ilustración 43. Unidad de lavado	108
Ilustración 44. Unidad de secado	110
Ilustración 45. Unidad de molienda	111
Ilustración 46. Unidad de extracción	111
Ilustración 47. Unidad de filtrado.	112
Ilustración 48. Unidad de secado por aspersion	113
Ilustración 49. Unidad de evaporación	114
Ilustración 50. Unidad de mezcla.	114
Ilustración 51. Maquina lavadora JP3000	116
Ilustración 52. Deshidratador de frutas 64	117
Ilustración 53. Molino de mandíbulas	118
Ilustración 54. Molino de bolas MZ200	118
Ilustración 55. Filtro de prensa	119
Ilustración 56. Sistema de funcionamiento de	120
Ilustración 57. Encuesta de consumo de aguacate.	142
Ilustración 58. Encuesta organoléptica para conservante natural al 0,1%	143
Ilustración 59. Encuesta organoléptica para conservante natural al 0,3%	144
Ilustración 60. Encuesta organoléptica para conservante natural al 0,5%	145
Ilustración 61. Encuesta organoléptica para ácido cítrico al 0,1%	146
Ilustración 62. Encuesta organoléptica para ácido cítrico al 0,3%	147
Ilustración 63. Encuesta organoléptica para ácido cítrico al 0,5%	148
Ilustración 64. Ficha técnica de la bacteria <i>Escherichia coli</i>	156

LISTA DE CUADROS

	Pág
Cuadro 1. Variedades según la raza ecológica o hibridaciones	20
Cuadro 2. Clasificación taxonómica del aguacate	20
Cuadro 3. Regiones colombianas de plantaciones comerciales.	27
Cuadro 4. Procesos de conservación del aguacate y el puré de guacamole.	30
Cuadro 5. Diversos métodos de extracción.	31
Cuadro 6. Clasificación de compuestos fenólicos	35
Cuadro 7. Antioxidantes primarios comúnmente usados en alimentos	38
Cuadro 8. Resumen de métodos de extracción	79
Cuadro 9. Definición de parámetros sensoriales	90
Cuadro 10. Corrientes de proceso de obtención del conservante	106

LISTA DE TABLAS

	Pág
Tabla 1. Razas ecológicas del aguacate	19
Tabla 2. Información nutricional	25
Tabla 3. Estacionalidad de la producción de aguacate Hass en Colombia	28
Tabla 4. Peso de las semillas	42
Tabla 5. Relación de diámetro y longitud de la semilla	43
Tabla 6. Porcentaje de cenizas de la semilla	46
Tabla 7. Porcentaje de humedad de la semilla	47
Tabla 8. Matriz de selección del método de extracción	52
Tabla 9. Condiciones de operación para la extracción por ultrasonido	58
Tabla 10. Condiciones de operación para la extracción por ultrasonido	62
Tabla 11. Análisis fitoquímico	67
Tabla 12. Método de mejor contenido de Polifenoles	71
Tabla 13. Condiciones de extracción utilizando etanol como solvente	72
Tabla 14. Determinación de la actividad antioxidante del extracto	76
Tabla 15. Condiciones de extracción utilizando etanol como solvente	77
Tabla 16. Acidez titulable para diferentes concentraciones	90
Tabla 17. Corrientes balance de materia	115
Tabla 18. Ficha técnica de la lavadora JP3000, NIKO	116
Tabla 19. Ficha técnica del deshidratador de frutas 64	117
Tabla 20. Ficha técnica percolador 01 SLG 500	119
Tabla 21. Parámetros técnicos del secador por aspersion ZPG-80.	121
Tabla 22. Especificaciones técnicas de evaporador YMD-15S-2	121
Tabla 23. Costos activos fijos tangibles	123
Tabla 24. Activos fijos intangibles	124
Tabla 25. Costos mano de obra laboral	124
Tabla 26. Costos administrativos.	125
Tabla 27. Nomina proyectada a 5 años.	125
Tabla 28. Servicios públicos requeridos	126
Tabla 29. Energia electrica proyectada a 5 años	126
Tabla 30. servicio de agua proyectada a 5 años	126
Tabla 31. Costos totales de inversión	127
Tabla 32. Amortización de crédito	127
Tabla 33. Flujo de caja del proyecto	128
Tabla 34. Indicadores financieros del proyecto	131
Tabla 35. Peso de 30 semillas de aguacate variedad Hass.	138
Tabla 36. Relación diámetro y longitud de la semilla	139
Tabla 37. Determinación de porcentaje de humedad de la semilla.	139
Tabla 38. Datos para la curva de calibración con ácido gálico.	140
Tabla 39. Absorbancias para el cálculo de contenido de polifenoles totales.	140
Tabla 40. Curva de calibración trolox	141
Tabla 41. Absorbancias para el cálculo de actividad antioxidante DPPH	141
Tabla 42. Tabulación de datos de la encuesta No.1	149

Tabla 43. Tratamiento 0,1% conservante natural.	150
Tabla 44. Tratamiento 0,3% conservante natural.	151
Tabla 45. Tratamiento 0,5% conservante natural.	152
Tabla 46. Tratamiento 0,1% ácido cítrico.	153
Tabla 47. Tratamiento 0,3% ácido cítrico.	154
Tabla 48. Tratamiento 0,5% ácido cítrico.	155

LISTA DE ANEXOS

	Pág
Anexo A. Tablas de caracterización física de el residueo de semilla de aguacate variedad has perseá americana mill	138
Anexo B. Tablas de curva de calibración de ácido gálico y contenido total de polifenoles por folin-ciocalteu	140
Anexo C. Encuestas para el analisis organoleptico, formuladas para diferentes concentraciones de conservante	142
Anexo D. Cotización equipos y costos de servicios públicos	157
Anexo E. Servicios publicos (utilities)	163

RESUMEN

El objetivo de este proyecto es la obtención de un conservante natural a partir de la semilla de aguacate variedad Hass *Persea americana miller*, con el fin de darle un uso a este en la industria alimentaria. Para llevar a cabo el objetivo principal, se hizo imprescindible recuperar información bibliográfica sobre las características de los conservantes en general , conceptos sobre antioxidantes , contenido de polifenoles totales, actividad antioxidante , pruebas de degradación enzimática , también fue necesario hacer una caracterización del residuo donde se determinaron propiedades de la materia prima como peso, longitud y diámetro , densidad aparente y empacada , como también contenido de humedad y cenizas. Esto con fines de llevar el proceso a escalamiento industrial, Además se realizaron pruebas en el conservante a 0.1%, 0.3% y 0.5% con el fin de que pueda ser aplicado en alimentos evaluando pH, acidez titulable, y análisis microbiológico. Los métodos de extracción que se estudiaron fueron la extracción asistida por ultrasonido y lixiviación, donde por medio de una matriz de decisión PUGH se evaluaron los criterios relevantes críticos tanto para el proyecto y así llegar a extraer el conservante a la mejor disposición con los métodos encontrados en la literatura. Para finalizar, se establecieron las variables necesarias para elaborar un análisis de la viabilidad financiera del proyecto teniendo en cuenta los criterios de evaluación (TIR, TIO, Flujo de caja, VPN y ROIC), con el fin de determinar si es adecuado o no, llevar a cabo este proceso para la obtención del conservante a la industria alimentaria.

Palabras clave: Polifenoles, enzimas, antioxidantes, acidez titulable, semilla, aguacate.

INTRODUCCIÓN

En los últimos años, el aguacate ha sido uno de los productos alimenticios de mayor crecimiento en Colombia, debido a esto se ha calificado como “oro verde” o aguacate variedad Hass, el cual registra un incremento anual cercano del 15% alcanzando así 15.000 hectáreas sembradas en 13 departamentos del país, según la encuesta nacional agropecuaria, ENA (DANE, 2016), “Durante el año 2015 en Colombia se obtuvo una producción de 274.330 toneladas de aguacate, provenientes de las diversas variedades cultivadas, con rendimientos promedios de 7,2 toneladas por hectárea al año, siendo el departamento del Tolima el principal productor con 52.838 toneladas, seguido por los departamentos del valle del cauca, caldas y Risaralda”¹. En Bogotá, actualmente una de las empresas que más comercializa este producto, es la empresa productos del Campo San Gregorio, este producto, se ha está estado procesando, llegando a una producción mensual de 100 a 150 toneladas de este fruto, empresa a la cual se estudiará para dar una viabilidad a nivel industrial utilizando sus residuos (semilla).

Con lo anterior, la industria alimentaria en procesamiento de aguacate está generando una gran cantidad de estos residuos subproductos orgánicos como cascara, semilla etc. donde se pueden presentar como un residuo aprovechable para la elaboración de antioxidantes o polímeros, aquí su utilización servirá para controlar la cantidad de material que es desechado al ambiente y pueden acumularse a través del tiempo hasta su deterioro final.

Una de las características que más se ha evaluado en estos residuos ha sido la actividad antioxidante, contenido de polifenoles, siendo catalogados como fuentes potenciales de compuestos antioxidantes, la actualidad se han encontrado su aplicabilidad en alimentación y cosmética, puesto que estas sustancias químicas, por su naturaleza, se encargan de proteger las células debido a los daños ocasionados por los radicales libres en cada una de ellas². Por esta razón, La ingesta de polifenoles como sustancia natural a través de la dieta ha aumentado su popularidad en los últimos años para prevenir enfermedades.

¹ DINERO. Más allá del superficial debate del aguacate versus petróleo. [En línea]. Bogotá 2018. [Fecha de consulta 20 de diciembre de 2018]. Disponible en: <http://www.dinero.com/pais/articulo/debate-sobre-el-aguacate-versuspetroleo/257043>

² SEGOVIA, Francisco., *et al.* Avocado seed: Modeling extraction of bioactive compounds. Barcelona, España. 2016. [PDF].

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Obtener un conservante natural partiendo de la semilla de aguacate variedad Hass (*Persea Americana Mill*).

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ❖ Caracterizar el residuo de la semilla de aguacate Variedad Hass (*Persea Americana Mill*).
- ❖ Seleccionar la metodología para la extracción de compuestos fenólicos presentes en la semilla de aguacate variedad Hass (*Persea Americana Mill*).
- ❖ Evaluar las características y el desempeño del antioxidante natural obtenido por la metodología seleccionada.
- ❖ Determinar la factibilidad financiera del proceso de obtención del antioxidante partiendo de los residuos de semilla de aguacate variedad Hass (*Persea Americana Mill*).

1. MARCO TEORICO

1.1 AGUACATE

El aguacate es una planta dicotiledónea que pertenece al orden Ranales, familia Laurácea y género *Persea*, el cual está conformado por 150 especies distribuidas, en las regiones tropicales y subtropicales.³

Esta planta es originaria de centro América, la clasificación botánica se divide en tres razas: americana, guatemalensis y drymifoli, con diferencias en la madurez de la fruta y el contenido de aceite. Las condiciones edafoclimáticas y de suelo del cultivo, juegan un papel de vital importancia en la formación del fruto donde se logran identificar diferentes especies por la altura de planta, en la forma y tamaño del fruto y color de follaje. Por otra parte, muchos de los cultivares comerciales son híbridos de las tres razas. Existe una gran variabilidad en los rasgos de la fruta, no solo entre razas sino también entre cultivares dentro de una raza. Una de las diferencias más distintivas entre los cultivares es el color de la cáscara cuando está maduro.⁴

Tabla 1. Razas ecológicas del aguacate

Características	Americana (mexicano)	Guatemalensis (guatemalteco)	Drymifoli (antillano)
Peso promedio de la fruta	98.8 g	309.8g	312.5 g
Espesor de la cascara	Delgada y muy delgada	Medio, grueso o muy grueso	Delgado, medio o grueso
Textura de la cascara	Membranosa	Taponado	Fibroso
Temperatura media anual para arboles nativos (°C)	13.5 a 20.5	21.0 a 28.0	24.0 a 27.0
Temperatura media anual para arboles introducidos (°C)	20.5 a 25.5	18.0 a 28.5	19.0 a 20.0
Precipitación media anual para arboles nativos (mm)	560 a 2200	800 a 3400	1100 a 3350
Precipitación media anual para arboles introducidos (mm)	300 a 2250	250 a 7000	600 a 700
Altitud (msnm)	950 a 2250	20 a 1200	50 a 800

Fuente: FAO, Avocado Post-harvest Operations, 2004.

³ ROSERO ROSERO, Johanna catalina. Extracción y caracterización de los principios activos fenólicos con actividad antioxidante a partir de residuos de aguacate: Epicarpio y semilla (*Persea americana*). [PDF]. Tesis para optar por el título de químico. Universidad de Nariño, 2017. [Consultado 5 octubre de 2018]. Disponible en: shorturl.at/hlsFJ

⁴ YAHIA E. M. Avocado (*Persea americana Mill.*). The New Zealand Institute for Plant & Food Research. New Zealand; 2011. [PDF]

A nivel general se cuenta con una clasificación con más de 500 variedades de aguacate, pero no todas son seleccionadas ya que se busca crear variedades comerciales, las cuales deben ajustarse a los estándares de la producción comercial (tiempos, cantidades, contenido de proteínas y grasas, resistencia al transporte etc.). Por tales motivos encontramos variedades que se hibridan de las razas ecológicas tales como se presenta en el cuadro 1.

Cuadro 1. Variedades según la raza ecológica o hibridaciones.

Raza ecológica / Hibridaciones	Variedades
Antillano	Pollock, Peterson, Waldin
Guatemalteco	MacArthur, Orotava, Nabal, Anaheim, Booth 7, Booth 8, Hass, Lamb-Hass, Hass Carmen, Reed, Edranol, Itzama, Nabal, Linda, Pinkerton.
Mexicano	Puebla, Mayapán, Zutano, Topatopa, Bacon. Mexicola, Duke, Gottfried, Zutano.
Mexicano-guatemalteco	Fuerte, Ettinger, Rincón, Robusto, Lula
Antillano-guatemalteco	Gema, Choquette

Fuente: DORANTES, Lidia; PARADA Lidia y ORTIZ Alicia. FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Italia:2004., p 5.

1.1.1 Clasificación taxonómica del aguacate

Cuadro 2. Clasificación taxonómica del aguacate.

Reino	Plantae
Subreino	Tracheophyta (Plantas vasculares)
División	Magnoliophyta (Plantas con flor)
Clase	Magnoliopsida (Dicotiledóneas)
Subclase	Magnoliidae
Orden	Laurales
Familia	Lauraceae
Genero	<i>Persea</i>
Especie	<i>Persea americana Mill.</i>
Variedad	Hass

Fuente: elaboración propia. ROBAYO. A. Universidad Nacional de Colombia. 2016.

1.2 AGUACATE VARIEDAD HASS.

Es un cultivar perteneciente a la raza ecológica guatemalteca *Persea nubigena* var. *guatemalensis* (ver Cuadro 1), fue patentada en 1935 por Rudolph Hass⁵. Este fruto se adapta a condiciones subtropicales, temperaturas de 5 a 19 °C y alturas entre los 1.800 y 2.000 msnm,⁶ los factores anteriormente mencionados alteran las características del fruto tal como se observa en la ilustración 1.

Por lo general se producen frutos de poco tamaño menores a los 200 g en peso, por lo cual se debe tener en cuenta la edad del árbol y si presenta alguna enfermedad, puesto que esto genera frutos pequeños, por otra parte, los cultivos que se dan en climas templados y zonas más frías en el trópico, producen frutos de mayor tamaño⁷. Es autofértil, pero se recomienda establecer dentro del huerto algunos árboles de los cultivares Fuerte o Ettinger, para mejorar la polinización⁸.

En cuanto a la poscosecha este fruto se considera privilegiado gracias a sus buenas capacidades de almacenamiento y transporte, este comportamiento se otorga a las altas concentraciones de calcio del fruto.

Su comportamiento en los últimos 50 años le han dado una gran aceptabilidad en los climas subtropicales, tanto así que para el año 2010, representó un 100% de la producción en Chile, un 97% en Brasil, un 95% en Nueva Zelanda, un 94% en California y México, un 80% en España, un 80% en Australia, un 42% en Perú, un 45% en Sudáfrica, un 33% en Israel y un 26% en Colombia.⁹

⁵ DANE. Departamento Nacional de Estadística. Boletín informativo, Cultivo del aguacate Hass (*Persea americana* Mill; *Persea nubigena* var. *Guatemalensis* x *Persea americana* var. *drymifolia*), plagas y enfermedades durante la temporada de lluvias. [en línea]. [Consultado el 12 de noviembre de 2018]. Disponible en: https://www.dane.gov.co/files/investigaciones/agropecuaria/sipsa/Bol_Insumos_ago_2016.pdf.

⁶ ICA. Instituto Colombiano Agropecuario. Manejo fitosanitario del cultivo del aguacate Hass. (*Persea americana* Hass). p. 6-9

⁷ BERNAL ESTRADA, Jorge. et al. Manual técnico actualización tecnológica y buenas prácticas agrícolas (BPA) en el cultivo de aguacate. 2008. p. 11-407.

⁸ DANE, Op. cit., p.2

⁹ NEWETT et al., 2007; MEJÍA, 2011. Citado por: BERNAL ESTRADA, Jorge. et al. Op.cit., p. 44.

Ilustración 1. Influencia de la altura sobre la forma y aspecto de la epidermis del fruto del aguacate cv. Hass.



Fuente: DANE, Cultivo del aguacate Hass (*Persea americana* Mill). Colombia. [en línea]. [Consultado el 12 de noviembre de 2018]. Disponible en: https://www.dane.gov.co/files/investigaciones/agropecuario/ipsa/Bol_Insumos_ago_2016.pdf.

Por otra parte, este fruto cuenta con una abundante proporción de ácidos grasos monoinsaturados, una baja cantidad de ácidos grasos saturados y cero colesterol, y es rico en vitamina E, vitamina B6, ácido ascórbico, β -caroteno y potasio¹⁰.

1.2.1 Fisiología del aguacate Hass. El aguacate Hass tiene de tamaño pequeño, con un peso entre 150 a 400 g, su forma es ovoide.¹¹ Estos frutos están compuestos por un endocarpio (semilla) de color café medio a oscuro, un epicarpio (cáscara) rugoso, de color verde que posterior a su maduración toma un color desde verde oscuro a morado o negro cuando está madura, esto es un indicador natural de la madurez de consumo¹². y un mesocarpio (pulpa), con un contenido de grasa aproximadamente oscila entre el 17 al 21% en base húmeda.¹³

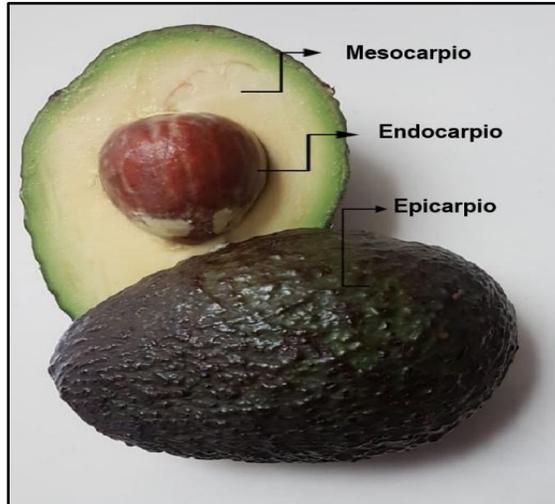
¹⁰ BERGH, B. Nutritious value of avocado. California: Avocado Society Book. Citado por: BUELVAS, G. A. Evaluación del proceso de extracción de aceite de aguacate Hass (*Persea americana* Mill) utilizando tratamiento enzimático. 2012. pp. 138-150. [pdf]

¹¹ ROBAYO MEDINA, Angie. Magister en Ciencias – Química. Caracterización fisicoquímica de diferentes variedades de aguacate, *Persea americana* Mill. (Lauraceae) e implementación de un método de extracción del aceite como alternativa de industrialización. Universidad Nacional de Colombia. 2016.

¹² BERNAL ESTRADA, Op. cit., p. 44

¹³ Ibid., p. 44

Ilustración 2. Descripción del aguacate variedad Hass.



Fuente: elaboración propia.

1.2.2 Maduración del aguacate Hass. En el fruto se consideran dos fases de la maduración, las cuales se conocen como madurez fisiológica y maduración organoléptica; estos son primordiales para establecer la calidad del fruto en cuanto al almacenamiento y consumo. Se considera que un aguacate está fisiológicamente maduro cuando este ha alcanzado una fase particular de desarrollo en el cual, si es cosechado, madurará a una condición comestible con un sabor aceptable y una textura identificable de la variedad específica.¹⁴ Por otra parte, si se almacena un aguacate inmaduro a condiciones en las que maduraría normalmente, por lo general lo que ocurre es que este se encoje, se torna gomoso y se decolora.¹⁵

La madurez organoléptica corresponde cuando el fruto tiene características de color, sabor y aroma que el consumidor desea.¹⁶ No obstante, la madurez del fruto se da al combinar estas dos fases una seguida de la otra, puesto que cuando se alcanza la madurez fisiológica y sea cosechado, diferentes reacciones bioquímicas producto de la respiración y transpiración, hacen que disminuya el contenido de humedad y aumente el contenido de aceite y materia seca; llegando a la madurez organoléptica.¹⁷

¹⁴ ZAPATA J, Esteban. *et al.* Manual técnico poscosecha aguacate Hass (*Persea americana Mill*). Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. Colombia.2014. p. 8-55

¹⁵ HATTON *et al*, 1964. Citado por: ZAPATA J, Esteban. *Ibid*, p. 10

¹⁶ ZAPATA J, *Op cit.*, p. 10

¹⁷ *Ibid*, p. 10

Los indicadores que se evalúan para determinar la madurez fisiológica del fruto son:

- **Color del epicarpio (cáscara):** como se observa en la ilustración 1 se distingue ya que van de tonalidades de verde a morado o negro, pero esto no es confiable ya que el fruto puede tener un lado opaco y otro brillante, a parte que este criterio suele ser muy subjetivo y se necesita de experiencia y destreza visual.

Ilustración 3. Color de epicarpio según estado de maduración.



Fuente: MARTOLIMA CIPAS, Proceso de exportación agroprogreso S.A.S, 2015.

- **Color del mesocarpio (pulpa):** Pasa de ser pálida a ser cada vez más amarillenta – verdosa y de textura cremosa, se dice entonces que el fruto alcanza su madurez fisiológica. El color de la pulpa es más notorio en la parte que está en contacto con la semilla¹⁸, sin embargo, igual que el anterior no es muy verídico determinarlo solo por este índice ya que se requiere de experiencia para la determinación, porque los cambios de color son tenues.
- **Contenido de aceite:** Refleja condiciones de crecimiento durante las diferentes fases de desarrollo del fruto¹⁹, para determinar el contenido de aceite es necesario realizar una extracción soxhlet con éter de petróleo del material seco²⁰.
- **Contenido de materia seca:** Es una alternativa rápida, sencilla y económica,²¹ la mayoría de los países ponen un estándar mínimo de maduración para asegurar que frutas inaceptablemente inmaduras no sean comercializadas. Respecto a la aceptación por el consumidor. la fruta con alto contenido de materia seca tiene mayor probabilidad de ser de mejor sabor.²² Se dice que el contenido de aceite en

¹⁸ Ibid, p.11

¹⁹ BEAN, 1956. Citado por: ZAPATA J, Ibid, p. 12

²⁰ Ibid, p. 12

²¹ LEE *et al*, 1983; RANNEY *et al*, 1992. Citado por: ZAPATA J, Op cit., p.12

²² CLARK *et al*, 2003. Citado por: : ZAPATA J, Ibid, p.13

el fruto está directamente relacionado con la mejora de la calidad comestible de los aguacates.

Para determinar el contenido de materia se puede utilizar tanto un horno de convección forzada como un horno microondas.²³ El método consiste en cortar en tajadas la pulpa, que se someterán a un microondas o un horno de convección estandarizado de forma tal que se evidencie la deshidratación de la pulpa y no logre quemarse, estas pulpas se dejan en un papel deshidratado previamente; el proceso finaliza cuando se alcanza un peso constante y se procede a calcular el contenido de materia seca con la siguiente formula:

$$\%MS = \frac{\text{Peso de papel y tajadas final (constante)} - \text{peso papel deshidratado}}{\text{Peso papel y tajadas inicial} - \text{peso de papel deshidratado}} * 100$$

1.2.3 Valor nutricional. La pulpa de aguacate variedad Hass tiene un alto valor energético y nutritivo. A continuación, en la tabla 2 se muestra el aporte nutricional contenido en una porción de 100 gramos.

Tabla 2. Información nutricional

Tamaño de porción	100 g
Energía	160 kcal
Proteína	2 g
Grasa	14,66 g
Grasa saturada	2,126 g
Grasa poliinsaturada	1,816 g
Grasa monoinsaturada	9,799 g
Colesterol	0 mg
Carbohidratos	8,53 g
Fibra	6,7 g
Azúcar	0,66 g
Sodio	7 mg
Potasio	485 mg

Fuente: FATSECRET. Chile. [En línea].
Disponible en: shorturl.at/afIAD

²³ ZAPATA J, Op cit., p. 13

1.2.4 Aguacate Hass en el mundo. La producción de aguacate variedad Hass en el mundo tiene gran aceptabilidad y su crecimiento ha sido constante en las últimas dos décadas, medido en términos de volumen y área cultivada es la quinta fruta tropical más importante del mundo²⁴, esto se debe a que los consumidores cada vez más buscan tener una dieta basada en productos naturales, no obstante, de este fruto se derivan productos de bastante interés tales como el aceite, el cual tiene gran impacto en la industria cosmética por sus propiedades antioxidantes, en fabricación de productos como jabones, champús y ungüentos.

Según la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO, por sus siglas en inglés) el área sembrada es de 516.485 ha y una producción mundial de 4'717.102 Ton para el año 2013, de la cuales 144.000 ha y 1'500.000 Ton corresponden a México, por lo que se constituye como el país líder en el cultivo del aguacate²⁵. Mientras tanto en Europa, el país importador principal es Francia, seguido de Reino Unido y Holanda. Se conoce que el aguacate de mayor consumo en la Comunidad Europea es la variedad Hass con un 65%²⁶. Entre los países productores el mayor rendimiento se reporta para Israel, con un promedio de 11,2 t/ha; México, principal exportador, tiene 10,1 t/ha, Perú 9,02 t/ha y Chile solo 6,5 t/ha. Colombia tiene un promedio general de 10,8 t/ha, que lo posiciona en el segundo lugar a nivel mundial en este aspecto.²⁷

1.2.5 Aguacate Hass en Colombia. La buena aceptabilidad en los últimos años que ha tenido la variedad Hass a nivel mundial ha llevado este fruto a posicionar a Colombia hoy día en el cuarto puesto a nivel mundial de productores de este fruto²⁸, gracias a la diplomacia sanitaria, los protocolos fitosanitarios y a entes como el Consejo Nacional de la Cadena del Aguacate en Colombia (Junio de 2008) el cual se creó con el fin de fortalecer la competitividad en el mercado, optimizar la producción y facilitar estrategias para un desarrollo sostenible. Esta cadena del aguacate está conformada por productores, proveedores de insumos y semillas, comercializadores, industrias de procesamiento y exportadores que cuentan con el apoyo del sector público y académico integrado por entidades como el Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, el Instituto Colombiano Agropecuario ICA, la Universidad Nacional de Colombia, la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria CORPOICA, entre otros²⁹, que permiten el ingreso del fruto a los mercados internacionales. Actualmente Colombia desea potencializar su mercado

²⁴ GÓMEZ SANTAMARIA, Cristina. *et al.* Mejorar la productividad del aguacate Hass mediante un prototipo de agricultura de precisión que permita el uso eficiente del recurso hídrico. [en línea]. En: ACOFI. 2018. [Consultado 4 de abril de 2019]. Disponible en Internet: <https://www.acofipapers.org/index.php/eiei2018/2018/paper/viewFile/2834/1070>

²⁵ FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2015

²⁶ *Ibid.*, p 9

²⁷ VELÁSQUEZ, 2006. Citado por: BERNAL ESTRADA, Jorge. *et al.* Op.cit., p. 45.

²⁸ MINAGRICULTURA, Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, Aguacate Hass colombiano será una estrella en el Super Bowl de Estados Unidos, 2019. P. 1-3.

²⁹ MADR, 2008; BAREÑO, 2014. Citado por: ROBAYO MEDINA, Angie, Op. cit., p. 21.

en Estados Unidos, ya que es el segundo país con mayor consumo del fruto y abrir nuevos mercados en Asia, especialmente en China. Actualmente exporta aguacate Hass a Alemania, Bahrein, Bélgica, Canadá, China, Costa Rica, Dinamarca, Emiratos Árabes, España, Estados Unidos, Francia, Holanda, Inglaterra, Italia, Panamá, Portugal, Reino Unido, Rusia, Suecia, Suiza y Túnez, recientemente también se logró la apertura del mercado de Argentina³⁰.

Para las condiciones de cultivo del fruto en el territorio colombiano puede crecer desde el nivel del mar hasta los 2500 m.s.n.m. en zonas de cordillera³¹, sus plantaciones comerciales pueden agruparse en cuatro regiones que incluyen 16 departamentos distribuidos así:

Cuadro 3. Regiones colombianas de plantaciones comerciales.

Zonas o regiones del país	Departamentos
Zona Costa Atlántica	Bolívar, Sucre, Cesar y Magdalena
Zona Centro Occidente	Antioquia, Caldas, Risaralda, Quindío y Valle del Cauca
Zona Centro- Sur	Tolima, Huila y Cauca
Zona Centro- Oriente	Santander, Norte de Santander, Boyacá y Cundinamarca

Fuente: BAREÑO, F., 2014. Citado por: ROBAYO MEDINA, Angie, Op. cit., p. 22.

El aguacate variedad Hass es más resistente a los cambios climáticos por lo que se cultiva en zonas cálidas, templadas y frías del territorio colombiano, principalmente en los departamentos de Antioquia, Tolima, Caldas, Risaralda, Quindío, Cauca, Valle del Cauca, Santander y Nariño³².

La producción de aguacate Hass en Colombia tiene en cuenta condiciones agroambientales para el cultivo tales como, la altitud (óptimo entre, los 1.800 hasta los 2.000 msnm), temperatura (óptima de 4 a 19 °C), humedad relativa (de baja a media), precipitación (1.200 y 1.600 milímetros de lluvia bien distribuidos durante el año), Los vientos no deben ser constantes, ni alcanzar velocidades por encima de los 20 kilómetros³³ y por último, los requerimientos del suelo deben estar muy bien drenados, con profundidad efectiva y nivel freático superiores a 1,0 metro, con texturas livianas que favorezcan la formación de un sistema radicular denso y muy ramificado³⁴. El aguacate se adapta a una gran gama de suelos, desde los arenosos

³⁰ MINAGRICULTURA, Ibid, p. 2.

³¹ BERNAL & DÍAZ, 2014. Citado por: ROBAYO MEDINA, Angie, Op. cit., p. 21.

³² PLAN DE NEGOCIOS DEL AGUACATE, 2013. Citado por: ROBAYO MEDINA, Angie, Ibid., p. 22.

³³ DANE, Op. cit., p.3.

³⁴ AVILÁN *et al.*, 1989. Citado por: DANE, Ibid., p. 3.

(A) hasta los franco-arcilloarenosos; el contenido de arcilla en los suelos no debe superar el 28% y finalmente, debe tener un pH óptimo comprendido entre 5,5 y 6,5³⁵. Todo lo anterior genera una estacionalidad en la producción del fruto como se observa en la tabla 3, donde es evidente que entre los meses de junio a septiembre existe una baja de producción a diferencia de octubre a diciembre donde se dan los mejores rendimientos, cabe resaltar que la producción comprendía entre enero a junio es estable.

Tabla 3. Estacionalidad de la producción de aguacate Hass en Colombia

Origen	Enero	Febrero	Marzo	Abril	Mayo	Junio	Julio	Agosto	Septiembre	Octubre	Noviembre	Diciembre
Oriente antioqueño	■	■	■	■	■							
Norte del Tolima	■				■	■				■	■	■
Eje Cafetero	■	■								■	■	■
Suroeste antioqueño	■									■	■	■
Cauca									■	■	■	■
Valle del cauca	■								■	■	■	■

Fuente: PROGRAMA DE TRANSFORMACIÓN PRODUCTIVA, 2013.

Proyecciones realizadas por la ASOFRUCOL “Asociación Hortifrutícola de Colombia” para el año 2022, la cadena productiva del aguacate sería liderada por los departamentos de Antioquia, Tolima, Caldas, Risaralda, Quindío y Valle del Cauca. Mientras que para el año 2030, se alcanzará una producción de 165820 Ton de la var. Hass, implementando el Programa de Transformación Productiva del Gobierno Nacional de Colombia y un área sembrada de 31134 ha en todo el territorio colombiano, con más del 53 % cultivada con var. Hass³⁶.

Teniendo en cuenta estos datos de estacionalidad y además entendiendo que la empresa Productos del Campo San Gregorio, cuenta con dos proveedores fuertes de aguacate variedad Hass a nivel nacional, como lo son Westfalia y Catarma, se tiene una producción del conservante natural es constante y no existe mayor alteración por las épocas en las que se produce en menor proporción el fruto.

1.3 PRODUCTO SECUNDARIO PROCESADO.

El aguacate para ampliar la comercialización a gran escala y dar un valor agregado al mismo, desarrolla productos alimenticios derivados de esta fruta con una vida útil lo suficientemente larga como para su transporte y distribución a los consumidores, de este modo, uno de los productos procesados que más se destacan, son el guacamole (ilustración 4), el cual hoy día microempresas, se encargan de

³⁵ Ibid., p. 3

³⁶ ROBAYO MEDINA, Angie, Op. cit., p. 22.

producirlo, promoviendo la creación de plantas de procesamiento, lo que a su vez genera nuevos empleos y aumenta las ganancias de los agricultores.

Ilustración 4. Producto procesado, guacamole



Fuente: FAO, Avocado post-harvest operations, 2004, p. 16.

1.3.1 Dificultades en procesar y conservar productos de aguacate. Los productos de aguacate mínimamente procesados satisfacen la demanda de los consumidores de productos frescos; sin embargo, la vida útil de estos productos es relativamente corta, de una a varias semanas. Generalmente, los factores de conservación son una combinación de aditivos y refrigeración.³⁷ Los principales problemas que enfrenta un procesador de alimentos al desarrollar y conservar productos de aguacate son:

- Controlar y mantener un estado óptimo de madurez sobre el aguacate.
- Pardeamiento enzimático, catalizado por la acción de la polifenoloxidasa y otras enzimas reductoras de oxidante.
- Pérdida de color verde debido a cambios en las moléculas de clorofila a bajos valores de pH.
- Generación de sabores desagradables y pérdida de textura como resultado de tratamientos térmicos convencionales.
- La contaminación microbiana que está presente en la cáscara de la fruta, debido a las deficientes prácticas agrícolas (particularmente en los países en desarrollo). Esta contaminación es difícil de eliminar debido a la textura áspera de la piel, especialmente en la variedad Hass.

1.3.2 Métodos o procesos de conservación del aguacate utilizados en el pure de aguacate y guacamole. Para la conservación de estos productos derivados del aguacate existen los procesos térmicos donde comúnmente se realiza una disminución de la temperatura en procesos como la refrigeración y la congelación, no obstante, hoy en día, los métodos se combinan con la adición de aditivos para mejorar la calidad sensorial y evitar la sinéresis. Los productos de aguacate

³⁷ WELTI-CHANES, *et al.*, 1998. Citado por: FAO, Avocado post-harvest operations, 2004, p. 16.

congelado tienen una vida útil de uno a dos años. A continuación, en el cuadro 4 se resumen procesos de conservación aplicados al guacamole y puré.

Cuadro 4. Procesos de conservación del aguacate y el puré de guacamole.

Método	Fundamento	Observaciones	Referencias
Congelación	Disminuye las actividades enzimáticas y microbianas.	La mezcla de aguacate se puede conservar durante 9 meses cuando se envasa con nitrógeno (gas inerte). Hoy en día, la vida útil del guacamole congelado es de 1 a 2 años.	Stephens, T.S., Lime, B.J. y F.P. Griffiths. 1957. J Rio Grande Valley Hort. Soc. 11, 82-89
Tratamientos térmicos convencionales	Disminuye o elimina la población microbiana, desactiva las enzimas.	Se generan sabores extraños, dependiendo del tiempo de procesamiento y las temperaturas.	García, R. et al. 1975. J Food Sci, 40: 200
Liofilizar	Liofilizar Disminución de la actividad del agua para evitar el crecimiento microbiano y la actividad enzimática.	Buenos resultados en muestras con un contenido de humedad <2,5%. Se considera caro. La vida útil es de hasta 9 meses.	Gómez, R.F., y R.P. Bates. 1970. J Food Sci, 35 (4)
Aditivos más refrigeración (procesamiento mínimo)	Compuestos que inhiben la actividad de polifenoloxidasas, a pH controlado y actividad de agua para inhibir el crecimiento microbiano.	Las rebanadas de aguacate tratadas con cisteína y pirofosfato de sodio, a pH = 5.5 duraron 8 días en refrigeración.	Dorantes, L. 1998. Internacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos, 4, 107-113.
Alta presión hidrostática	La presión entre 300 y 600 MPa puede inactivar el deterioro de los alimentos y los microorganismos patógenos.	Al combinar la presión alta y reducir el pH, fue posible obtener un buen producto refrigerado.	López-Malo et al. 1998. Food Research International, 31, 549-556
Microondas, métodos combinados.	Se combinan un tratamiento térmico con microondas, microondas, reducción del pH y formación de complejos clorofila-zinc.	El color se deteriora menos por la formación de complejos estables. El sabor se conserva mejor que en los procesos convencionales.	Guzmán, R.I. et al. 2002. Innovative Food Science and Emerging Technologies 3, 47-53.

Fuente: FAO, Avocado post-harvest operations, 2004, p. 17-18.

1.4 METODOS DE EXTRACCIÓN

La extracción desempeña un papel importante a la hora de obtener compuestos fenólicos, dado que, en los últimos años, el compromiso con el medio ambiente está más enmarcado hacia una química verde, por tal motivo se busca minimizar el uso de solventes orgánicos sin que se afecte el rendimiento y calidad de los polifenoles deseados.

Por otro lado, se deben considerar algunos aspectos como la preparación del alimento, en la que se deben eliminar toda materia que pueda afectar la pureza del extracto; la técnica a usar y el solvente son otros factores de interés, puesto que favorecen la cantidad en cuanto al perfil fenólico en el extracto.

Estudios realizados han mostrado una serie de técnicas avanzadas que pretenden mejorar y optimizar tiempo de extracción, por otro lado, evalúan solventes sugeridos en el entorno de crear una química verde, los cuales pretenden no ser nocivos, ni prolongar el uso de solventes que se consideren de algún modo tóxicos. A continuación, en el cuadro 5, se muestra una breve clasificación de las técnicas tradicionales y avanzadas.

Cuadro 5. Diversos métodos de extracción.

Métodos tradicionales	Métodos avanzados
Infusión	Extracción
Decocción	Extracción por fluido supercrítico
Maceración	Extracción asistida por microondas
Percolación	Extracción asistida por ultrasonido
Extracción de reflujo	Extracción asistida por enzimas
Extracción soxhlet	Extracción de campo eléctrico pulsado

Fuente: PANJA, Palash, Green extraction methods of food polyphenols from vegetable materials, 2017.

Los métodos tradicionales de extracción sólido-líquido más usados en la extracción de compuestos fenólicos son la percolación (lixiviación), la extracción por soxhlet y la maceración, el inconveniente que surge de estos métodos son la cantidad de tiempo que se requiere para que se lleva a cabo la extracción, los requerimientos de temperatura y en muchos casos los solventes que se utilizan que por lo general son tóxicos o nocivos para la salud.

1.4.1 Extracción por percolación. Extracción por percolación. Se utiliza una sustancia líquida como disolventes orgánicos en frío para preservar los compuestos termolábiles que pudiera contener el material³⁸, el cual entra en contacto íntimo con

³⁸ GONZALEZ VILLA, Angela. Obtención de aceites esenciales y extractos etanolicos de plantas del amazonas. Universidad Nacional de Colombia. Manizales. [En línea]. Disponible en: Biblioteca Digital UNAL. 2004. [Consultado 12 de abril de 2019]. Disponible en Internet: <http://www.bdigital.unal.edu.co/1173/1/angelaandreagonzalezvilla.2004.pdf>

la muestra sólida, logrando una difusión del soluto o solutos desde el sólido a la fase líquida, lo que produce una separación de los compuestos originales del sólido.³⁹ Se requiere agregar solvente constantemente.

1.4.2 Extracción por maceración. Consiste en remojar el material sólido (en muchos casos dicho sólido es material vegetal), debidamente fragmentado, en un solvente que por lo general es etanol o agua, hasta que éste penetre y disuelva las porciones solubles.⁴⁰ En cuanto al recipiente se debe tener en cuenta que pueda contener el disolvente y no sea atacado por este, en el mismo se ingresa el sólido y se deja reposar por un periodo aproximado de 2 a 14 días, se puede realizar agitación esporádica. Finalmente, después de este tiempo, se filtra y se recupera el solvente en un evaporador rotatorio y se obtiene el extracto.

A nivel laboratorio se cuenta con métodos avanzados como lo son las extracciones asistidas por microondas, las asistidas por ultrasonido, las asistidas por campo eléctrico pulsado y las asistidas por enzimas, así como las extracciones de líquidos presurizados y de fluidos supercríticos.⁴¹

1.4.3 Extracción asistida por ultrasonido. Es una técnica considerada como emergente en la industria de los alimentos, la cual basa su técnica en la emisión de ondas de sonido con una alta frecuencia más allá de la capacidad de audición humana, trabajando en un rango de 20 kHz a 2 MHz (menos que la frecuencia de MW)⁴². Las ondas de sonido tienen un impacto significativo en un medio elástico como disolventes líquidos. El medio cambia de forma cuando las ondas de sonido viajan a través de ellas y regresan a su forma original en ausencia de ondas de sonido, que generan burbujas de cavitación, al colapsar millones de estas, liberan energía, creando zonas localizadas de alta presión y temperatura. El mecanismo es conocido como el efecto cavitación, como se observa en la ilustración 5.

Este mecanismo se puede describir en 4 pasos:

- Se generan burbujas de cavitación cerca de la superficie de la matriz de la planta en la aplicación de ondas de ultrasonido.
- Las burbujas se colapsan, liberando un microjet con presión y temperatura hacia la superficie.
- La superficie de la matriz se rompe y se establece un contacto directo entre los ingredientes activos dentro de la celda y el solvente externo.

³⁹ CERVANTES RAMIREZ, José. Extracción de la tintura de Aloe vera utilizando el método sólido-líquido, en el equipo de extracción multifuncional mediante diferentes solventes: etanol, metanol y acetona. Instituto Politécnico Nacional. México D.F., 2013. p. 28.

⁴⁰ GONZALEZ VILLA, Angela, Op. cit., p.9

⁴¹ PANJA, Palash, Op. cit., p.4

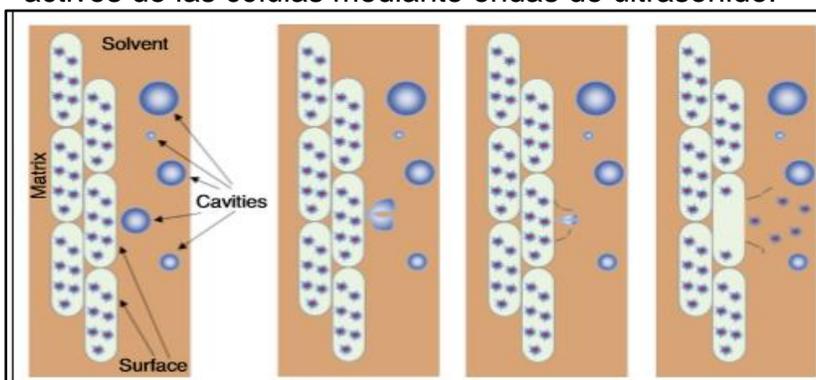
⁴² Ibid., p.4

- Los componentes activos son liberados y transportados al solvente. De esta forma, las ondas de ultrasonido potencian la transferencia de masa.

Cabe resaltar que este método funciona con cualquier líquido que se use como disolvente, no tiene restricción alguna, pero se debe tener en cuenta la afinidad de los solventes por los componentes activos⁴³.

Se deben considerar aspectos como la influencia del tiempo de extracción, la temperatura, la concentración de solvente, la relación sólida a líquido, el tamaño de partícula, la potencia de ultrasonido y la frecuencia.

Ilustración 5. Mecanismo de liberación de componentes activos de las células mediante ondas de ultrasonido.



Fuente: PANJA, Palash, Green extraction methods of food polyphenols from vegetable materials. Food Science.

1.4.4 Extracción asistida por microondas. En esta técnica se emiten radiaciones electromagnéticas con longitudes de onda que van desde 1 mm hasta 1 m con frecuencias desde 300 MHz (1 m) hasta 300 GHz (1 mm)⁴⁴. El método de extracción asistido por microondas es uno de los métodos avanzados que está ganando popularidad porque los hornos de microondas o equipos personalizados están fácilmente disponibles a bajo costo, por otro lado, evita el sobrecalentamiento de los alimentos, que a su vez no permite el pardeamiento o daños en el fruto. El principio de calentar un solvente por microondas se basa en el calentamiento dieléctrico, causado por la rotación del momento dipolar. Las moléculas giran según los momentos dipolares y se aleatorizan instantáneamente con la frecuencia del microondas, lo cual provoca el calentamiento del disolvente y el segundo mecanismo se llama conducción iónica⁴⁵. Los iones están alineados con el campo electromagnético, como la radiación de microondas. La fricción entre el flujo de iones y el resto del solvente da como resultado que el calor depende de la polaridad del solvente y la presencia de iones en el solvente, ambos mecanismos pueden

⁴³ Ibid., p.5

⁴⁴ PANJA, Palash, Op. cit p.3

⁴⁵ Ibid., p. 3-4

ocurrir simultáneamente. En esta metodología se tiene en cuenta la selección del disolvente ya que influye tanto en la afinidad por el compuesto activo y la capacidad de este para absorber la radiación de microondas.

1.4.5 Extracción con líquidos presurizados (PLE). Este tipo de extracciones se realiza con un solvente verde potencial que es el agua, el cual se conoce como extracción a presión de agua caliente (PHWE), este tipo de extracción se presuriza regularmente con CO₂, el cual sirve tanto para fines de aumento de la presión y el aumento de pH. “La temperatura de extracción, presión, velocidad de agitación, tiempo de extracción, tamaño de partícula de la muestra, el pH del agua, y el agua para alimentar relación son los factores clave que afectan al rendimiento de PHWE”.⁴⁶

1.4.6 Extracción por fluido supercrítico (SFE). Es un método el cual aprovecha el poder disolvente de fluidos y presiones por encima de sus valores críticos, lo cual permite que no exista ningún límite de fase líquido-gas y por tal motivo no exista tensión superficial, teniendo un comportamiento como única fase, conservando las propiedades de gas y líquido al mismo tiempo.⁴⁷

1.4.7 Extracción asistida por enzimas (EAE). El objetivo principal es la extracción de materiales vegetales rompiendo o suavizando las paredes celulares. Esta técnica resulta muy efectiva para polifenoles que se encuentran enlazados con proteínas o hidratos de carbono dentro de la célula o las paredes de la misma. Las enzimas más usadas en este método son la celulosa, pectinasa y proteasa. El factor primordial para maximizar “el rendimiento de polifenoles, es el tamaño de partícula y la relación que este tiene con la enzima y la muestra”.⁴⁸

1.4.8 Extracción de campo eléctrico pulsado (PEE). Es una extracción verde no térmica, se usan pulsos eléctricos de moderada a alta intensidad, donde se pasan a través de muestras colocadas en dos electrodos. Esta técnica se usa principalmente en microbiología para aumentar la permeabilidad de la membrana celular para entregar productos químicos dentro de la célula.⁴⁹

1.5 COMPUESTOS BIOACTIVOS

Son una serie de sustancias no nutritivas contenida en los alimentos que intervienen en el metabolismo secundario de los vegetales: sustancias colorantes (pigmentos),

⁴⁶ PANJA, Palash, Op. cit., p.4

⁴⁷ Ibid., p.5

⁴⁸ Ibid., p.6

⁴⁹ Ibid., p.6

aromáticas, reguladores del crecimiento, protectores naturales frente a parásitos y otros, que no tienen una función nutricional clásicamente definida, o no son considerados esenciales para la salud humana, pero que pueden tener un impacto significativo en el curso de alguna enfermedad⁵⁰.

1.5.1 Compuestos fenólicos. Son compuestos naturales con estructuras aromáticas que contienen uno o más anillos aromáticos con o sin la proximidad de un heterociclo y que están injertados con grupos funcionales hidroxilo, carboxilo, metoxilo y carbonilo. Según la estructura química básica, los polifenoles se pueden clasificar en 10 clases diferentes; sin embargo, se pueden identificar dos grupos principales de polifenoles: flavonoides y no flavonoides ⁵¹. Los polifenoles desempeñan importantes funciones fisiológicas en los vegetales, en general y debido a que en su forma polimérica se oxidan con mucha facilidad y actúan como antioxidantes.

Los compuestos fenólicos son antioxidantes que pertenecen a un gran número de compuestos presentes en frutas y verduras que ejercen una fuerte acción antioxidante necesaria para el funcionamiento de células vegetales,⁵² tal como se muestra en el cuadro 6. Estos Metabolitos secundarios, están constituidos por un gran número de estructuras heterogéneas, desde simples moléculas hasta compuestos altamente polimerizados.⁵³

Cuadro 6. Clasificación de compuestos fenólicos

Producto	Antioxidantes fenólicos
Cebollas	Quercetina, camferol
Romero	Ácido carnósico ácido rosmárico
Vino tinto	Ácidos fenólicos, polifenoles
Cítricos	Bioflavonoides, chalconas
Aceitunas	Polifenoles
Frijol de soja	Isoflavonas, ácidos fenólicos
Café	Esteres fenólicos
Té verde, té negro	Polifenoles, catequina
Aceitunas	Polifenoles
Frijol de soja	Isoflavonas, ácidos fenólicos
Café	Esteres fenólicos

Fuente: AVELLOO, Suwalsky, Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección,2006, p. 165.

⁵⁰ PALENCIA, Y. Sustancias bioactivas en alimentos. Universidad de Zaragoza.España.

⁵¹POPA Biomass as Renewable Raw Material to Obtain Bioproducts of High-Tech Value.pdf. (2018). Pág. 129.

⁵² AVELLOO, SUWALSKY Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección.2006, p.165.

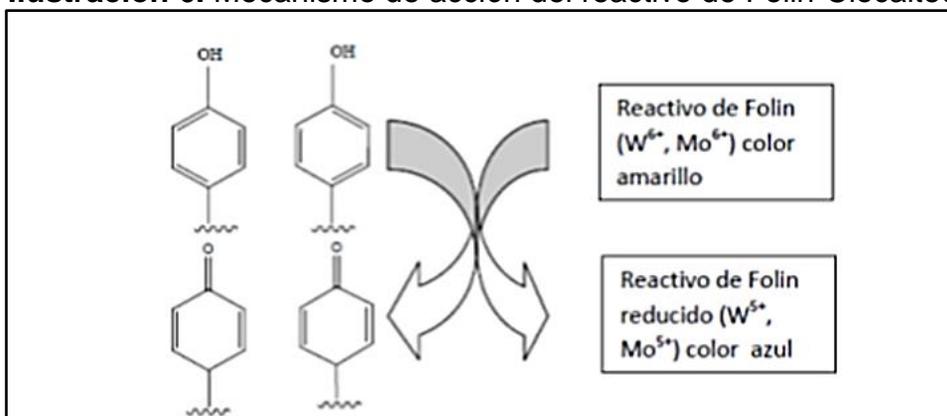
⁵³ REIS GIADA, Maria de Lourdes, Food Phenolic Compounds: Main Classes, Sources and Their Antioxidant Power, En: MORALES-GONZALES, Jose A. (Ed.). Biochemistry, Genetics and Molecular Biology: Oxidative Stress and Chronic Degenerative Diseases- A role for Antioxidants. p. 87-112.

La contribución de cada componente no solo depende de la concentración y de su calidad como antioxidante, sino también la interacción con otros componentes.

1.5.2 Contenido de polifenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu. El ensayo colorimétrico de Folin-Ciocalteu se utiliza como medida del contenido en compuestos fenólicos totales en productos vegetales.⁵⁴

El principio del método consiste en la reacción de los compuestos fenólicos con el reactivo de Folin-Ciocalteu, a pH básico y reduciéndose hasta sus óxidos, dando lugar a una coloración azul susceptible de ser determinada espectrofotométricamente a 765 nm,⁵⁵ dicha reducción es producto de la oxidación de compuestos fenólicos. El mecanismo de la reacción de reducción de este reactivo que muestra un complejo coloreado se presenta en la ilustración 2.

Ilustración 6. Mecanismo de acción del reactivo de Folin-Ciocalteu



Fuente: GARCÍA, Eva, et al., Determinación de polifenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu. Universidad Politécnica de Valencia. Departamento de tecnología de alimentos.

La concentración de fenoles se reporta en términos de concentración equivalente de ácido gálico por gramo de muestra.⁵⁶ No obstante, el reactivo de Folin-Ciocalteu, a pesar de ser el más comúnmente empleado para la determinación del contenido de polifenoles, puede reaccionar con compuestos no fenólicos, como son el ácido ascórbico, los azúcares y los aminoácidos, produciéndose así una sobrevaloración del contenido fenólico.⁵⁷

⁵⁴ AVILA, Iris., Estudio de los compuestos polifenólicos, con énfasis en flavonoides, del hongo *lentulina edodes* y determinación de la actividad antioxidante, Trabajo de grado para optar por el título de Magister en química, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, 2009, p.37.

⁵⁵ GARCÍA, Eva, *et al.*, Determinación de polifenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu. Universidad Politécnica de Valencia. Departamento de tecnología de alimentos.

⁵⁶ CASTRO, H. 2008. Citado por: AVILA, Iris., *Op. cit.*, p. 37.

⁵⁷ BARROS, *et al.* 2009. Citado por: AVILA, Iris., *Ibid.*, p.37.

1.6 ANTIOXIDANTES

Los antioxidantes son sustancias artificiales o naturales que ayudan a retrasar el daño celular en una célula. Las fuentes ricas de estos compuestos se pueden hallar en alimentos como frutas y verduras; donde se ha conocido que son saludables. Una prueba de ello, es que se ha demostrado en varias investigaciones que las personas que ingieren alimentos ricos en estos compuestos, son menos propicias a contraer varias enfermedades. Por lo anterior, se ha investigado a cerca de suplementos antioxidantes todo en busca de neutralizar el estrés oxidativo en varios procesos bilógicos y proporcionando grandes hallazgos de los antioxidantes en experimentos de laboratorio.⁵⁸ Con esto, muchos experimentos dieron a conocer que los antioxidantes interactúan con los radicales libres estabilizándolos evitando que estos mismos causen daño celular.⁵⁹

1.6.1 Antioxidantes naturales. Estos antioxidantes como su nombre lo indica son de “origen vegetal y pertenecen a una clase de compuestos fenólicos y poli fenólicos, así como carotenoides y vitaminas antioxidantes”.⁶⁰ La actividad de los antioxidantes y su mecanismo de acción está determinada por su estructura química de las moléculas que se encuentran presentes, además de su procesamiento y almacenamiento.⁶¹

1.6.2 Antioxidantes primarios. Antioxidantes tipo I o antioxidantes de ruptura de cadena, cuentan con la capacidad de actuar como “aceptores/secuestradores de radicales libres y retardar o inhibir los pasos de iniciación o interrumpir los pasos de propagación de la oxidación. Los antioxidantes primarios no pueden inhibir la oxidación fotosensibilizada o la eliminación de oxígeno.”⁶² Existen antioxidantes primarios los cuales son usados regularmente en grasas y aceites para alimentos,⁶³ tal como se resume en el cuadro 7.

⁵⁸ TORRES, Luis, Antioxidantes naturales. Aspectos saludables, toxicológicos y aplicaciones industriales, Santiago de Compostela. [en línea]. En: Medio rural, 2010. [Consultado 15 de abril de 2019]. Disponible en internet: http://mediorural.xunta.gal/fileadmin/arquivos/publicacions/alimentacion/antioxidantes_2010_es.pdf

⁵⁹ *ibid.*, p. 87.

⁶⁰ F. SHAHIDI, en el Manual de Antioxidantes para la Conservación de Alimentos, En: Handbook of arsenic toxicology, 2015.

⁶¹ *Ibid.*, p.3

⁶² POLANIA, Wilson. Actividad antioxidante de los residuos del aguacate Hass (Persea americana Mill. var Hass) sometidos a extracciones clásicas y a fluidos presurizados. Universidad Nacional de Colombia, Bogotá. (2014). pp. 13-14

⁶³ *Ibid.*, pp. 17-18.

Cuadro 7. Antioxidantes primarios comúnmente usados en alimentos

Naturales	Sintéticos
Carotenoides	Butilhidroxianisol (BHA)
Flavonoides	Butilhidroxitolueno (BHT)
Ácidos fenólicos	Galato de propilo
Tocoferoles, tocotrienoles	terc- butilhidroquinona (TBHQ)

Fuente: POLANIA, Wilson. Actividad antioxidante de los residuos del aguacate Hass (Persea americana Mill. var Hass) sometidos a extracciones clásicas y a fluidos presurizados. Universidad Nacional de Colombia, Bogotá. (2014). P. 18.

1.6.3 Antioxidantes secundarios. Conocidos también antioxidantes preventivos, o de clase II, “la principal diferencia con los antioxidantes primarios es que no convierten radicales libres hacia moléculas estables, sino que actúan como agentes quelantes de iones metálicos, proporcionando átomos de hidrógeno a los antioxidantes primarios, así como descomponer hidroperóxidos a especies no radicalarias, desactivando oxígeno y absorber radiación UV, o actuando como secuestradores de oxígeno.”⁶⁴

1.6.4 Antioxidantes exógenos. “Este grupo de antioxidantes provienen de la dieta, dentro de este gran grupo se incluye la vitamina E, la vitamina C y los carotenoides. La Vitamina C constituye uno de los antioxidantes hidrosolubles más abundante en la sangre, mientras la vitamina E es el antioxidante lipofílico abundante”.⁶⁵

1.6.5 Actividad antioxidante por el método del 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH). El test DPPH es un método indirecto y está basado en la capacidad de estabilizar los radicales libres del DPPH (2,2-difenil-1-picril hidrazilo, que al estar estable presenta una intensa coloración violeta) al reaccionar con sustancias donadoras de H⁺, donde presenta una coloración amarilla;⁶⁶ lo cual permite medir la variación en su concentración por medios espectrofotométricos, con una longitud de onda de máxima absorbancia de 517 nm.

El ensayo consiste en adicionar a una solución de DPPH el extracto al cual se le desea determinar su actividad antioxidante, posteriormente (entre 30 minutos y una hora) se determina la variación de la absorbancia del DPPH la cual es proporcional a la actividad de los antioxidantes presentes en el extracto.⁶⁷

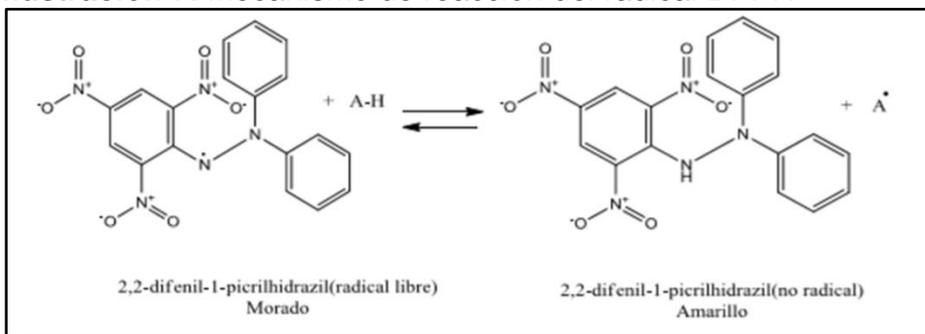
⁶⁴ Ibid., p. 14.

⁶⁵ AVELLOO. Op. cit., p.165.

⁶⁶ KRISHNAIAH et al., 2010. Citado por: CERON, I. et al., Capacidad antioxidante y contenido fenólico total de tres frutas cultivadas en la región andina, Universidad Nacional de Colombia, Manizales, 2011.

⁶⁷ AVILA, Iris., Op. cit., p. 38.

Ilustración 7. Mecanismo de reacción del radical DPPH



Fuente: AVILA, Iris., Estudio de los compuestos polifenólicos, con énfasis en flavonoides, del hongo *lentinula edodes* y determinación de la actividad antioxidante, 2009.

1.7 RADICALES LIBRES

Son moléculas altamente inestables que se forman naturalmente cuando se procesan los alimentos en energía. Se ha sabido, que estas moléculas pueden ocasionar “estrés Oxidativo” provocando así daño al interior de la célula, particularmente esto se da porque existen grupos de átomos que se encuentran con un electrón desapareado o libre, por lo que son muy reactivos, ya que tienden a buscar la estabilidad electroquímica con cualquier elemento.⁶⁸ La vida media biológica del radical libre es de microsegundos, por esto tiene gran facilidad de reaccionar con lo que este a su paso, dando lugar a un gran daño de moléculas. Con todo; este proceso debe estar controlado por la presencia de una sustancia que haga posible neutralizar el deterioro celular mediante la liberación continua de electrones para que estos sean captados por los radicales libres y ayuden a los diferentes mecanismos biológicos.⁶⁹

1.8 CONSERVANTES

Un conservante es “una sustancia o mezcla de sustancias, distinta a la materia prima básica de un producto, que se encuentra en este como resultado de cualquier fase de su producción, de su tratamiento, de su almacenamiento o de su envasado”.⁷⁰ A aquellos conservantes que se añaden a un producto concretamente para evitar que se alteren o contaminen, se les ha dado la denominación de conservantes químicos. Los conservantes pueden inhibir a los microorganismos evitando que puedan dañar la membrana celular, o también obstaculizar la actividad

⁶⁸ AVELLOO. Op. cit., p.161.

⁶⁹ Ibid., p.162.

⁷⁰ ARIAS Y LAZARO, Evaluación de cinco conservantes adicionados sobre diferentes tipos de almidones para ser empleados en procesos de restauración en el patrimonio documental, microbiología industrial, Bogotá, Universidad Pontificia Javeriana, 2006.

de sus enzimas o sus mecanismos genéticos.⁷¹ En muchos alimentos existen de forma natural sustancias con actividad antimicrobiana: “el ácido benzoico y el ácido cítrico que contienen variedad de frutas y en procesos de fermentación de lácteos por el ácido láctico liberado de la leche fermentada.”⁷²

1.8.1 Conservantes químicos. Estos conservantes se clasifican en tres tipos principales; antimicrobiano como el ácido benzoico, los propionatos; antioxidante, como el ácido ascórbico, hidroxilo anisol butilato; y antibióticos, tales como oxitetraciclina, niasina y lacto peroxidasa.⁷³

1.8.2 Conservantes naturales. Se clasifican en conservantes de planta (hierbas y especias), conservantes de Animales (manteca de cerdo), ciertos microbios y sus metabolitos (bacteriocinas).⁷⁴

Por otro lado, en procesos de la industria alimentaria, “se ha reducido el hecho de usar agentes conservantes por medios físicos como mantenimiento de cadenas de frío, atmosferas controladas, esterilización, no obstante, estos métodos no son ciento por ciento factibles, debido a que muchas bacterias son muy resistentes al calor, no siempre se puede garantizar la refrigeración y no garantiza del todo el crecimiento microbiano”.⁷⁵

⁷¹ Ibid., p. 40

⁷² GENOVEVA Gina., *et al*, Uso de aditivos en el procesamiento de guacamole, Perú, Universidad Nacional Jorge Basadre Grohman, 2015.

⁷³ ADAM, Conservación y vida útil extensión de aguacate, microbiología industrial, Nigeria, universidad de bayero, kano, 2014.

⁷⁴ Ibid., p. 30

⁷⁵ ADAM, Op cit., p.24

2. CARACTERIZACIÓN DE LA MATERIA PRIMA

Las semillas de aguacate variedad Hass que se emplearon en este proyecto, son provenientes de la empresa productos del campo San Gregorio S.A.S, ubicada en la calle 64g #89a-79, de la ciudad de Bogotá; esta empresa comercializa trozos de frutas, pulpas de fruta, jugos y néctares, salsas de frutas, base para infusiones, base limón coco, aguacate Hass y guacamole; siendo estos dos últimos fuente de los residuos (semilla).

En la producción de pulpa de aguacate y guacamole se genera mensualmente 75.8 toneladas de desperdicio de aguacate, donde el 70% son semillas, para un total de 53 toneladas mensuales de semillas y el 30% corresponde a la cascara del aguacate para un total de 22.8 toneladas al mes. Finalmente, estos residuos anualmente llegan a las 1200 toneladas.

Las muestras entregadas por la empresa se empacaron al vacío para mayor preservación de la semilla y sus componentes activos, tal como se muestra en la ilustración 8.

Ilustración 8. Residuo de semilla empacada al vacío



Fuente: elaboración propia

2.1 DETERMINACIÓN DE PROPIEDADES DE LA MATERIA PRIMA

Realizar una adecuada caracterización de la materia prima permite establecer las condiciones a las cuales debe someterse la semilla para realizar una buena adecuación de la muestra antes de proceder a la extracción. A continuación, se describen las pruebas realizadas para la semilla de aguacate variedad Hass (*Persea americana Mill.*).

2.1.1 Determinación de peso. Se tomaron de los 5 kg de muestra empacada al vacío, 30 (treinta) semillas de forma aleatoria, sin distinguir tamaño o forma, una por una se fue midiendo en una balanza LEXUS ALAXKA, con un rango de peso entre 10 g a 7.5 kg y una sensibilidad de dos cifras decimales.

A continuación, en la tabla 9. se muestran los resultados. (ver Anexo A.)

Tabla 4. Peso de las semillas

Unidad	Experimental	Polania 2014	Rodríguez et al, 2011
Total	1064,6 g		
Promedio	35,49 ±0,61 g	31,3 ± 8,0	40,5 ± 6,5
Desviación estándar	3,3202		

Fuente: elaboración propia.

2.1.2 Longitud y diámetro de las semillas. Se tomaron de los 5 kg empacados al vacío una muestra representativa de 2,518 kg las cuales representaban 65 semillas de forma aleatoria y posteriormente se clasificaron en grupos de 5 semillas cada uno, para un total de 13 grupos como se muestra en la ilustración 4., en cada uno se tomaron medidas de diámetro y longitud, usando como instrumento de medida un calibrador pie de rey digital metálico con un rango de medida 0" - 6", 0 mm - 150mm y una precisión +/- 0,02mm/0,001" (<100mm); esto con el fin de establecer la forma que presentaban las semillas de la empresa Productos del Campo San Gregorio S.A.S.

Ilustración 9. Semillas seleccionadas para el estudio.



Fuente: elaboración propia.

Las medidas de diámetro y longitud de las semillas, nos brinda un acercamiento de la forma que presentan, la relación de longitud y diámetro mayor que 1.0 da un acercamiento a una forma ovoide, mientras que las menores a 1.0 se asemejan a una forma esférica.

Tabla 5. Relación de diámetro y longitud de la semilla

Grupo	Diámetro (mm)	Longitud (mm)	Relación L/D
Promedio total	38,7±0,6	39,05±0,5	1,01±0,01
Desviación estándar	2,0818678	1,86895311	0,8977289

Fuente: elaboración propia.

Como se observa en la tabla 5 la relación L/D indica que la semilla de aguacate es ovoide, estos resultados se pueden identificar con mayor claridad en la tabla 29 del anexo A, por lo anterior, se establece que esta forma es propia de la variedad Hass, tal cual como se registra en la caracterización fisiológica en el primer capítulo.

2.1.3 Densidad Aparente. Como se sabe, la densidad aparente se divide en densidad aparente aireada y la densidad aparente empaquetada, por lo que las muestras para la semilla de aguacate variedad Hass (*Persea americana Mill*) fueron sometidas a las siguientes mediciones.

- **Densidad aparente aireada.** Se consigue al dividir la masa de la muestra para la semilla de aguacate variedad Hass (*Persea americana Mill*) y el volumen registrado en la probeta.⁷⁶

Ilustración 10. Probeta con semillas.



Fuente: elaboración propia.

⁷⁶ RAMIREZ, Iván, Propiedades de los sólidos, Fundación Universidad de América, 2015. p.1-4.

$$\text{Masa}(\text{air}) = 147.5 \text{ g}$$

$$\text{Volumen}(\text{air}) = 1000 \text{ cm}^3$$

$$\rho_{\text{apa}}(\text{air}) = \frac{m_i}{v_i} = \frac{147.5 \text{ g}}{1000 \text{ cm}^3} = 0.1475 \frac{\text{g}}{\text{cm}^3}$$

2.1.4 Densidad de partícula. Es la relación entre la masa de partícula y su volumen, para la semilla fue de 154.7621 kg/m³.

- **Densidad aparente empacada.** Una vez se tienen las mediciones de la densidad aparente aireada, se somete la probeta a una agitación manual, permitiendo así que las partículas se reacomoden y se deje menos espacios libres entre ellas, por lo que se calcula la densidad aparente empaquetada para las semillas de aguacate variedad Hass (*Persea americana Mill*).⁷⁷

Ilustración 11. Probeta con semillas de aguacate después de agitación.



Fuente: elaboración propia.

$$\text{Masa}(\text{emp}) = 147.5 \text{ g}$$

$$\text{Volumen}(\text{emp}) = 968 \text{ cm}^3$$

$$\rho_{\text{apa}}(\text{emp}) = \frac{m_i}{v_i} = \frac{147.5 \text{ g}}{968 \text{ cm}^3} = 0.1524 \frac{\text{g}}{\text{cm}^3}$$

⁷⁷ Ibid., p.3.

2.1.5 Determinación de cenizas de la semilla. Este parámetro permite determinar la calidad de la semilla en cuanto a su madurez, puesto que se considera un fruto inmaduro cuando presenta un porcentaje de humedad del 0.72% y en estado maduro cuando su porcentaje alcanza el 1,51%.⁷⁸ Para esta determinación se manejó los métodos oficiales de análisis de AOAC internacional (A.O.A.C 923.03, capítulo 32) “Determination of total ash and organic matter”.⁷⁹

Previamente a la determinación de cenizas, la semilla fue sometida a un secado al ambiente durante 4 horas, se sometió a molienda en un molino manual CORONA y por último se tamizó en malla número 20 (veinte). En la ilustración 12 se observa el resultado final de cenizas por triplicado.

Ilustración 12. Cenizas de la semilla.



Fuente: elaboración propia.

Para los cálculos de determinación del porcentaje de cenizas según el protocolo A.O.A.C 923.03(Official Method of Analysis), se utiliza la siguiente ecuación.

$$\% \text{ Cenizas} = \frac{C3 - C1}{C2 - C1} \times 100$$

Donde:

- C1: Masa del crisol vacío en gramos.
- C2: Masa del crisol con muestra en gramos.
- C3: Masa del crisol con la ceniza en gramos.

⁷⁸ OLAETA, J, et al., Utilización de la semilla de palta (Persea americana Mill.) CV.Hass como producto agroindustrial. Universidad de Chile, 2007, p. 5.

⁷⁹ A.O.A.C International, Determination of total ash and organic matter, cap. 2, 2005, p.2.

Tabla 6. Porcentaje de cenizas de la semilla

Crisol	Peso (g)	Peso (g)	Peso (g)
Crisol vacío	29,2084	27,8186	32,5028
Crisol con muestra	34,2136	32,827	37,5983
Crisol con ceniza	29,2958	27,9004	32,5868
% Cenizas	1,7462	1,6333	1,6485
Desviación estándar	2,8649	2,8683	2,9179

Fuente: elaboración propia.

2.1.6 Humedad. Según la definición de la norma para contenido de humedad y materia volátil, el método consiste en la pérdida de masa, calculada bajo condiciones de operación especificadas.⁸⁰

La adecuación de la muestra, yace por que el contenido de agua presente en las semillas de aguacate variedad Hass, crea vínculos fitoquímicos no apropiados, donde puede generar la degradación de compuestos.⁸¹ Por lo cual se toma una cantidad de material para analizar tal como se recoge (semillas más impurezas) de la empresa Productos del Campo San Gregorio.

Con todo, para esta práctica se utiliza horno o mufla a presión atmosférica para obtener una masa de material constante.⁸² Posteriormente en 4 crisoles se seca la muestra en una mufla a 103°C en un periodo de 130 minutos, posterior a esto, los 4 crisoles se someten a enfriamiento y se procede a pesar en una balanza analítica siguiendo el protocolo de la norma técnica colombiana 2228.

Ilustración 13. Semilla en trozos.



Fuente: elaboración propia.

⁸⁰ ICONTEC. Norma Técnica Colombiana Oleaginosas. Determinación Del Contenido De Humedad Y Materia Volátil. Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación, 1986.

⁸¹ MELO GARCIA, Felipe et al., Evaluación técnico-financiera para el proceso de obtención de aceite vegetal a partir de aguacate (*Persea americana*) variedad Lorena, Ingeniero químico, Bogotá, Universidad America, 2018.

⁸² ICONTEC, Op.cit., p.2.

$$Humedad = \frac{m1 - m2}{m1 - m0} \times 100$$

Donde:

- m1: Masa del crisol con muestra en gramos.
- m2: Masa del crisol con muestra en gramos después de un tiempo en horas.
- m0: Masa del crisol vacío en gramos.

Tabla 7. Porcentaje de humedad de la semilla

	Experimental	Polania 2014	Rodríguez et al. 2011
% Humedad	56,32 ±0,3	48,8 ± 2,1	55,7 ± 4,3
Desviación estándar	0,42		

Fuente: elaboración propia.

Para la humedad obtenida de la muestra, no debe exceder una diferencia de 0.005g, ya que según sea el caso que se exceda la cantidad. Se debe repetir el procedimiento por 1 horas más, hasta que el peso sea constante y de esta forma obtener un dato más preciso.

Una vez determinado el porcentaje de humedad, se establecen las condiciones a las cuales debe someterse la muestra para alcanzar un porcentaje menor del 10% de humedad en la semilla y poder efectuar una extracción de los compuestos fenólicos⁸³ y garantizar la obtención del conservante natural de la semilla de aguacate variedad Hass (*Persea americana Mill*).

Dentro de la caracterización fisicoquímica de diferentes variedades de aguacate, en la literatura se reporta que para la semilla de aguacate variedad Hass (*Persea americana Mill*) los valores de humedad en fruto maduro fueron de 65.96±0.18 g.⁸⁴

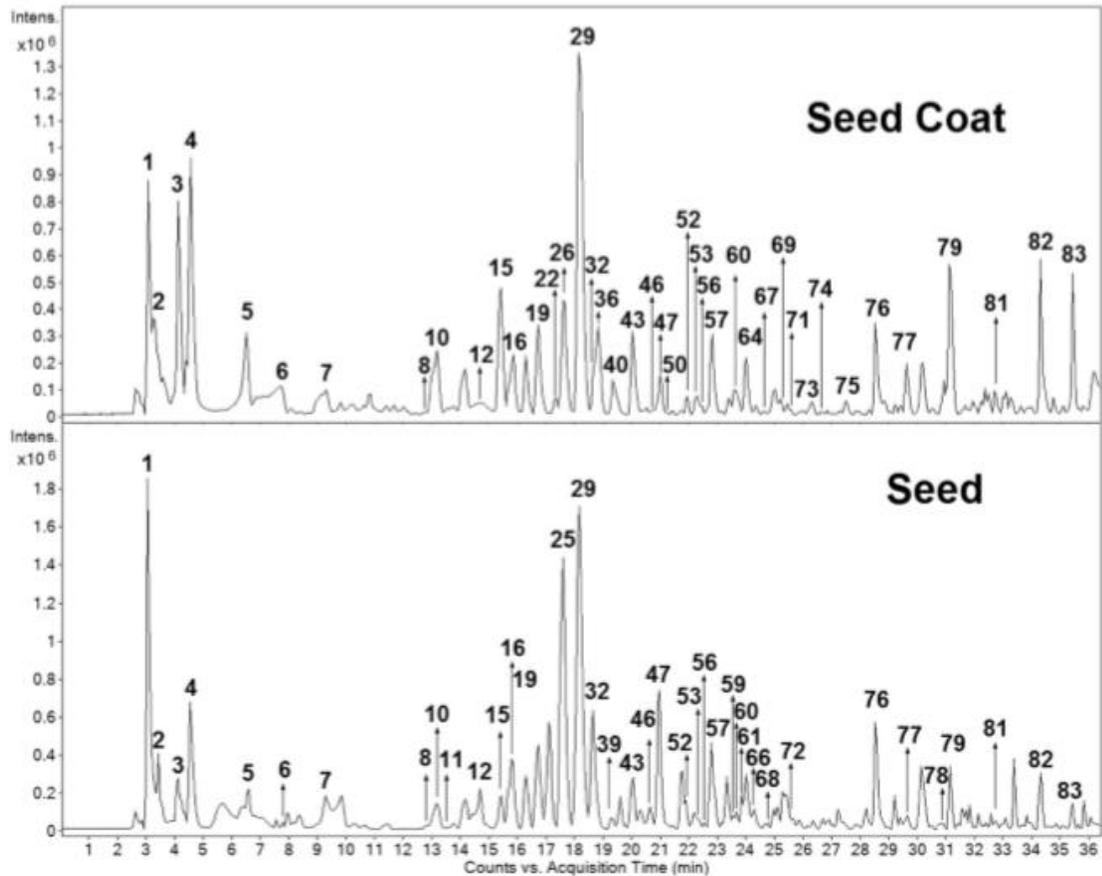
2.1.7 Composición química de la semilla de aguacate variedad Hass *Persea americana mil*. Para establecer los compuestos fenólicos que son aprovechables de la semilla de aguacate, se determinó a través de la cromatografía líquida acoplado a masas de ultra definición, realizada por Figueroa en su artículo "Comprehensive characterization of phenolic and other polar compounds in the seed and seed coat of avocado by HPLC-DAD-ESI-QTOF-MS, el cual estudio tanto el

⁸³ FIGUEROA, J.G., et al, characterization of phenolic and other polar compounds in the seed and seed coat of avocado by HPLC-DAD-ESI-QTOF-MS. En: Food Res. Int. 2018, Vol 105, p .753

⁸⁴ ROBAYO, Angie, Caracterización fisicoquímica de diferentes variedades de aguacate, *Persea americana Mill*. (*Lauraceae*) e implementación de un método de extracción del aceite de aguacate como alternativa de industrialización, Magister en ciencias químicas, Bogotá, Universidad nacional, 2016.

recubrimiento de la semilla como su parte interna. Como muestra la ilustración 14, donde el 7,45% es aprovechable para la obtención del conservante natural.

Ilustración 14. Compuestos bioactivos presentes en la semilla de aguacate variedad



Fuente: elaboración propia.

Los resultados que se muestran en esta cromatografía líquida representan los siguientes grupos de compuestos:

- Ácidos orgánicos: picos (2-6).
- Ácidos fenólicos: picos (15- 35).
- Isómeros del ácido cumaroquinquímico: picos (36-61).
- Ácido dihidrocaico y protocatequato de etilo: picos (64-79).
- Derivados fenólicos del alcohol: picos (12, 25 y 37).
- Flavonoides: picos (73,74 y 75).
- Catequinas: picos (77).
- Taninos: picos (56, 65, 69, 71 y 75).

3. SELECCIÓN DEL MÉTODO DE EXTRACCIÓN

En este capítulo se compara los diferentes métodos de extracción de los compuestos fenólicos presentes en la semilla de aguacate variedad Hass (*Persea americana mil.*) y de este modo establecer dos métodos que se llevaran a cabo a nivel laboratorio, los cuales serán comparados en cuanto a rendimientos en la obtención de los compuestos fenólicos y su actividad antioxidante, los cuales se determinaran mediante el método de Folin-Ciocalteu y el método de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) respectivamente y evaluar si la capacidad antioxidativa del extracto tiene las características para uso de conservante natural en la pulpa de aguacate de la misma variedad.

3.1 COMPARACION Y SELECCIÓN DE ALTERNATIVAS DE LOS METODOS DE EXTRACCION

Para realizar una elección de la mejor alternativa para la extracción de los polifenoles, se plantea desarrollar una matriz de decisión con la metodología PUGH, la cual es una técnica de toma de decisiones, que se enfrenta a un problema que tiene múltiples dimensiones y factores; de tal modo que busca comparar lógicamente diferentes opciones basadas en criterios predefinidos.⁸⁵

Esto permite escoger la metodología PUGH, que se emplea para filtrar, ordenar, resaltar o suprimir de forma selectiva los criterios críticos en los métodos de extracción y tener en cuenta los dos métodos con mayor puntuación para ser replicados.

La matriz se compone de 8 (ocho) factores a los cuales se les otorgo un nivel de importancia (nivel 1: Poco importante, nivel 2: Importante, nivel 3: Muy importante) que en la tabla estarán ubicados al lado de cada factor.

Para lograr calificar cada método en los diferentes criterios se asignó un signo, como se describe a continuación:

- Positivo (+): Se asigna cuando el valor debe ser sumado al criterio.
- Negativo (-): Se asigna cuando el valor debe ser restado al criterio.
- Neutro (0): Se asigna cuando el criterio resulta indiferente y no incide en el resultado final.

Finalmente, al ser evaluados cada uno de los criterios se realiza la sumatoria y los dos métodos con mayor puntuación serán los elegidos para la realización de este trabajo de grado.

A continuación, se describe en detalle los factores que se van a evaluar y su nivel de importancia.

⁸⁵ MELO, Felipe, Op.cit., p. 66.

- **Temperatura de extracción:** es un factor fundamental en la extracción de estos compuestos, puesto que en el artículo de la revista Agric. Food Chem, con el título de “Phenolic Compound Profiles and Antioxidant Capacity of *Persea americana* Mill. Peels and Seeds of Two Varieties”, de Kosinka, M.K (2012)⁸⁶, se estableció que la temperatura de extracción no podría ser mayor a 60°C ya que se comprobó la degradación de estos compuestos en el extracto. Su nivel de importancia es de 3 (Muy importante), donde otorgar un signo positivo (+) significa que el método logra controlar la temperatura y por el contrario un signo negativo (-) que el método no logra controlarla.
- **Selectividad del solvente:** es sin duda uno de los factores con mayor relevancia puesto que la elección del solvente estará directamente relacionada con el método que pueda aplicar dicho solvente, además se debe tener en cuenta propiedades como su miscibilidad, densidad, recuperación, precio, presión de vapor, viscosidad y estabilidad termoquímica.⁸⁷ Solventes como metanol, etanol, acetona, propanol y acetato de etilo han sido usados comúnmente a diferentes concentraciones para la extracción de compuestos fenólicos en productos frescos.⁸⁸ Su nivel de importancia es de 3 (Muy importante), donde otorgar un signo positivo (+) indica que el método acepta el solvente selectivo, mientras que el signo negativo (-) indica que el método no es tan apropiado el uso de dicho solvente.
- **Disponibilidad de equipos:** para este factor se tuvo en cuenta los equipos con los que contaba Tecnoparque SENA y las facilidades de encontrar otros equipos y el costo que para desarrollar el proyecto. Su nivel de importancia es de 3 (generaría Muy importante), donde otorgar un signo positivo (+) significa que hay disponibilidad de los equipos para desarrollar el método, mientras que el signo negativo (-) indica que no hay disponibilidad de estos.
- **Rendimiento del proceso:** se establece puesto que a mayor rendimiento que presente el método en la extracción de los polifenoles de la semilla de aguacate, se espera mayor rendimiento en la actividad antioxidante. Su nivel de importancia es 3 (Muy importante), donde otorgar un signo positivo (+) el método tiene un alto rendimiento, mientras que el signo negativo (-) indica un bajo rendimiento en el método.
- **Método de extracción en la industria:** es necesario establecer los métodos usados a nivel industrial ya que este proyecto va encaminado a una comunidad y debe evaluarse la replicabilidad que podrá llevarse a cabo en un escalamiento. Su

⁸⁶ KOSIŃSKA, Agnieszka, *et al.* Phenolic compound profiles and antioxidant capacity of *Persea americana* Mill. peels and seeds of two varieties. Journal of agricultural and food chemistry, 2012, vol. 60, no 18, p. 4613-4619.

⁸⁷ HAMINIUK, Charles, *et al.* Phenolic compounds in fruits – an overview. En: International Journal of Food Science and Technology, 2012. vol. 47, no. 10, p.1-22.

⁸⁸ ROSERO, J. Op. cit., p. 38.

nivel de importancia es 2 (Importante), donde otorgar un signo positivo (+) el método es usado industrialmente, mientras que el signo negativo (-) el método no es usado industrialmente.

- **Toxicidad de los solventes en los alimentos:** a parte de la selectividad del solvente debe evaluarse que tanto el solvente puede causar alguna alteración en el alimento y a su vez propiciar alguna molestia en el consumidor, ya que, aunque el extracto se pretenda concentrar y separar del solvente, no existe la garantía que esa separación sea del 100%, por otra parte, estudios han demostrado que el extracto etanólico de la semilla de *P. americana* muestra un efecto tóxico agudo en la concentración a partir de 500 mg / kg. La falta de actividad genotóxica in vivo del extracto permitió esperar que el extracto de semilla de *P. americana* se pueda utilizar como posible alimento, cosmético o material farmacéutico⁸⁹. Su nivel de importancia es 3 (Muy importante), donde otorgar el signo positivo (+) indica que el solvente no es tóxico, mientras que el signo negativo (-) indica que el solvente resulta ser tóxico en los alimentos.
- **Gasto energético:** es necesario buscar los métodos no logren consumir grandes cantidades de energía para que este sea más viable económicamente y a su vez no genere un impacto negativo al medio ambiente. Su nivel de importancia es de 1 (Poco importante), donde otorgar un signo positivo (+) indica que el método no requiere grandes gastos energéticos, mientras que el signo negativo (-) indica que el método requiere mayor gasto energético.
- **Peligrosidad:** es importante ya que se debe tener un margen de seguridad al momento de replicar los métodos, bien sea por los equipos que se van a manejar o por los reactivos que deben emplearse. Su nivel de importancia es 1 (Poco importante), donde otorgar un signo positivo (+) indica que no hay peligro considerable al ejecutar el método, mientras que el signo negativo (-) indica que hay que tomar medidas de precaución al ejecutar el método.

Los factores anteriormente mencionados se establecieron puesto que, para la extracción de compuestos fenólicos, los de mayor incidencia son la temperatura, la concentración del solvente,⁹⁰ y los demás se eligieron por la incidencia del método en los alimentos. Sin embargo, la peligrosidad se tuvo en cuenta también ya que se pretende llevar este proyecto a una comunidad carente de conocimientos químicos.

⁸⁹ PADILLA, Eduardo, et al. "Acute toxicity and genotoxic activity of avocado seed extract (*Persea americana* Mill., cv Hass)." *The Scientific World Journal* ,2013.

⁹⁰ FLORES, H *et al.* Optimización del proceso de extracción de sustancias antioxidantes a partir del orégano mexicano (*Lippia graveolens* hbk) utilizando la metodología de superficie de respuesta (msr), *Revista Mexicana de Ingeniería Química* Vol. 15, No. 3 (2016) 773-785

Tabla 8. Matriz de selección del método de extracción

Método de extracción		Fluido supercrítico	Microondas	Ultrasonido	Soxhlet	Acelerada por solvente	Lixiviación
Factores	Valor						
Temperatura de extracción	3	+	-	+	-	+	+
Selectividad del solvente	3	+	0	+	+	+	+
Disponibilidad de equipos	3	-	+	+	+	-	+
Rendimiento del proceso	3	+	-	+	+	0	+
Método de extracción en la industria	2	-	+	+	0	-	+
Toxicidad de los solventes en los alimentos	3	-	0	+	-	+	+
Gasto energético	1	0	-	0	-	-	+
Peligrosidad	1	+	+	-	0	-	-
	+	10	6	17	9	9	18
Total	-	8	7	1	7	7	1
	0	0	0	0	0	0	0
	Total	2	-1	16	2	2	17

Fuente: elaboración propia.

Los resultados que arrojó la matriz de selección permitieron observar que los métodos más adecuados según los factores establecidos son ultrasonido y lixiviación, a los cuales se les realizara pruebas de contenido de polifenoles totales y actividad antioxidante, por consiguiente, el método que tenga mejor desempeño se evaluara como conservante natural en la pulpa de aguacate variedad Hass.

3.2 ADECUACIÓN DE LA MUESTRA

Para la preparación de la muestra de la semilla de aguacate variedad Hass (*Persea americana mill*), se deben considerar el estado inicial de la materia prima al momento de ingresar al proceso, donde por ser un residuo contiene porciones de pulpa, por tal motivo debe realizarse un respectivo lavado con agua proveniente del acueducto y posterior a ello si realizar las operaciones unitarias que se describen a continuación en la ilustración 15.

Ilustración 15.D. Diagrama de proceso para la adecuación de la semilla



Fuente: elaboración propia.

3.2.1 Secado. Es una operación unitaria que consiste en separar pequeñas cantidades de agua u otro líquido de un material sólido con el fin de reducir el contenido de líquido residual hasta un valor aceptablemente.⁹¹

Para los procesos de extracción se requiere una humedad no superior al 10% en base seca⁹², por lo cual la semilla se sometió a un secado en mufla a 40°C durante 90 horas, puesto que la semilla como se estableció anteriormente presenta una humedad promedio de 56,32% lo cual es bastante alta, por tal motivo se requiere de este tiempo para alcanzar la humedad deseada, lo que a su vez, facilita el proceso de molienda para que las pérdidas sean mínimas. A continuación, se muestra como fueron cortadas las semillas manejando un área transversal de transferencia de calor grande de modo tal que se secó uniformemente.

Ilustración 16. Corte de semillas de aguacate



Fuente: elaboración propia.

Finalmente, se les realizó una prueba de cenizas bajo la misma norma técnica colombiana (NTC 2228), donde el porcentaje de humedad fue de 8,34% lo cual indicaba que era óptimo para los procesos de extracción.

3.2.2 Molienda. Es una operación unitaria de transformación física del material, que consiste en disminuir el volumen del sólido. Una vez obtenidas las semillas secas

⁹¹ CEBALLOS, J., Operaciones y procesos, Ingeniería química, Universidad de Cantabria, España, [en línea]. En: Open courses. [Consultado 3 de junio de 2019]. Disponible en Internet: <https://ocw.unican.es/pluginfile.php/1313/course/section/1616/BLOQUE2-OyP.pdf>

⁹² FIGUEROA, J.G., *et al.* Op. cit., p.753.

se pasaron por un molino de martillos que contaba con un motor que trabaja con una potencia de 2,7625 kW en promedio.

- **Potencia**

$$\begin{aligned}
 P &= V * I_{prom} \\
 &= (115V) \left(\frac{23,2A + 23,6A + 23,7A + 23,8A + 23,7A + 24,1A + 24,7A + 24,7A + 24,7A}{9} \right) \\
 &= 2762,555 \text{ W} = 2,76\text{kW}
 \end{aligned}$$

La potencia del molino se obtuvo mediante la multiplicación del voltaje del molino(V) por la corriente promedio (I prom), esta última se registró con ayuda de un multímetro LCD digital del mano, nueve veces y se estableció el promedio, de forma tal que se obtuvo la potencia a la que operaba el molino de martillos, el cual fue de 2,76 kW.

Para el almacenamiento de la harina de la semilla se contó con bolsas herméticas guardándose en una nevera de poliestireno expandido para sus posteriores análisis.

Ilustración 17. Obtención de harina de semilla del molino



Fuente: elaboración propia.

- **Pérdida en la operación de molienda.**

$$\text{Pérdida en molienda} = \frac{\text{Masa inicial} - \text{Masa final}}{\text{Masa inicial}} * 100\%$$

$$\text{Perdida en molienda} = \frac{523.5g - 425g}{523.5g} * 100\%$$

$$\text{Pérdida en molienda} = 18,82\%$$

Se esperaría en el caso de la molienda que la masa de alimentación de molino fuera la misma masa obtenida después del proceso, sin embargo, las pérdidas fueron de un 18,82%. Esto se puede explicar ya que el material pudo haberse acumulado dentro del molino, tanto en las paredes interiores como en los martillos del equipo. Además, las pérdidas se le pueden atribuir al error humano, en el momento en que se recogió el material, ya que la bolsa pudo haber sido puesta de manera correcta y, por ende, no se pudo acopiar el material completo.

3.2.3 Tamizado. Esta operación consiste en una separación física de partículas que pasan por tamices o cualquier equipo donde se pueda colar.

Al terminar la operación de molienda la muestra que se obtuvo se tamizó durante 15 min en una unidad de tamizado de marca Pinzuar Ltda. Modelo PS-35, con un montaje de tamices Tylerde, reteniendo el material en mallas No. 20, 40, 60, 80 y 100, finalmente, se pesó el material retenido en cada uno de ellos. Por último, dicha muestra se almacenó adecuadamente en un lugar seco y fuera del alcance de la luz para su posterior análisis. El tamaño de partícula incide en la extracción por ultrasonido⁹³, por tal motivo se evaluaron tres diferentes tamaños de partícula.

Ilustración 18. Unidad de tamizado.



Fuente: elaboración propia.

⁹³ PANJA, Palash, Op. cit., p.7

- **Pérdida en la operación de tamizado.**

$$Pérdida\ en\ tamizado = \frac{Masa\ inicial - Masa\ final}{Masa\ inicial} * 100\%$$

$$Pérdida\ en\ tamizado = \frac{425\ g - 410\ g}{425\ g} * 100\%$$

$$Pérdida\ en\ tamizado = 3,53\%$$

A diferencia de la molienda el porcentaje de pérdida en esta operación (3,5294%) no fue tan significativo y estas se pueden explicar de varias maneras, primero por errores humanos a la hora de transferir el material de los diferentes tamices a la balanza analítica, o por la dispersión del mismo en el aire.

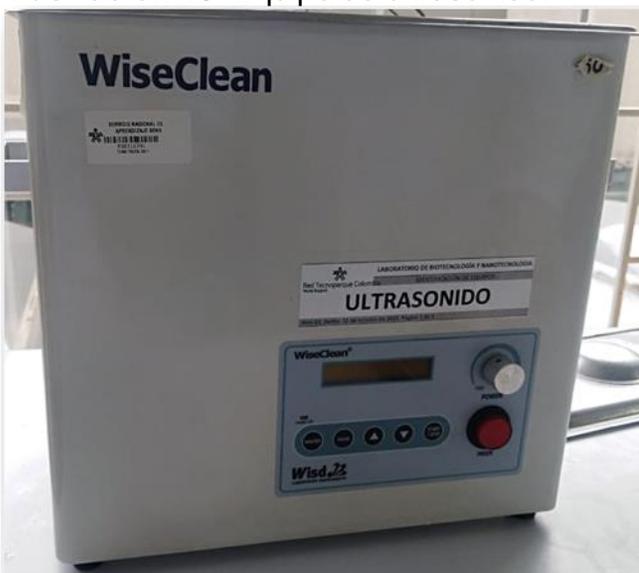
3.3 EXTRACCIÓN POR ULTRASONIDO

Para este método de extracción se evaluaron tres diferentes diámetros de partícula, pertenecientes a las mallas No. 20, 40 y 60, con un diámetro de partícula de 1,021 mm, 0,5 mm y 0,3031 mm respectivamente.

3.3.1 Reactivos, equipos y materiales. La extracción por ultrasonido requiere de:

- **Reactivos:** Alcohol etílico al 96%.
- **Equipos:** Digital Ultrasonic Cleaner. DH. WUC.D06H, marca WiseClean®, frasco tapa azul con capacidad de 500 mL, rotaevaporador Heidolph, balanza analítica Nimbus®, papel filtro Whatman N°.1 y embudo.

Ilustración 19. Equipo de ultrasonido.



Fuente: elaboración propia.

Ilustración 20. Rotaevaporador.



Fuente: elaboración propia.

- **Materiales:** Harina de semillas de aguacate.

3.3.2 Condiciones de operación. Para establecer las condiciones de operación para la extracción de los compuestos fenólicos de la semilla de aguacate Hass *Persea americana mil.* se definieron a través del artículo que lleva como título

“Avocado seed: Modeling extraction of bioactive compounds”⁹⁴ por Segovia, Francisco, et al., con algunas modificaciones como lo sugiere Panja en su artículo “Green extraction methods of food polyphenols from vegetable materials” en. *Current Opinion in Food Science*⁹⁵; de tal forma se establecieron condiciones para la extracción como se resume en la tabla 10, una vez obtenido el extracto concentrado se almaceno bajo refrigeración en un frasco ámbar hasta su posterior análisis.

Tabla 9. Condiciones de operación para la extracción por ultrasonido

Condiciones de operación	Medida
Temperatura de extracción	50°C
Tiempo de extracción	1 hora
Frecuencia del ultrasonido	40 KHz
Salida ultrasónica	120 W
Tiempo de rotaevaporación	15 minutos
Revoluciones por minuto	80 rpm
Temperatura de rotaevaporación	45°C

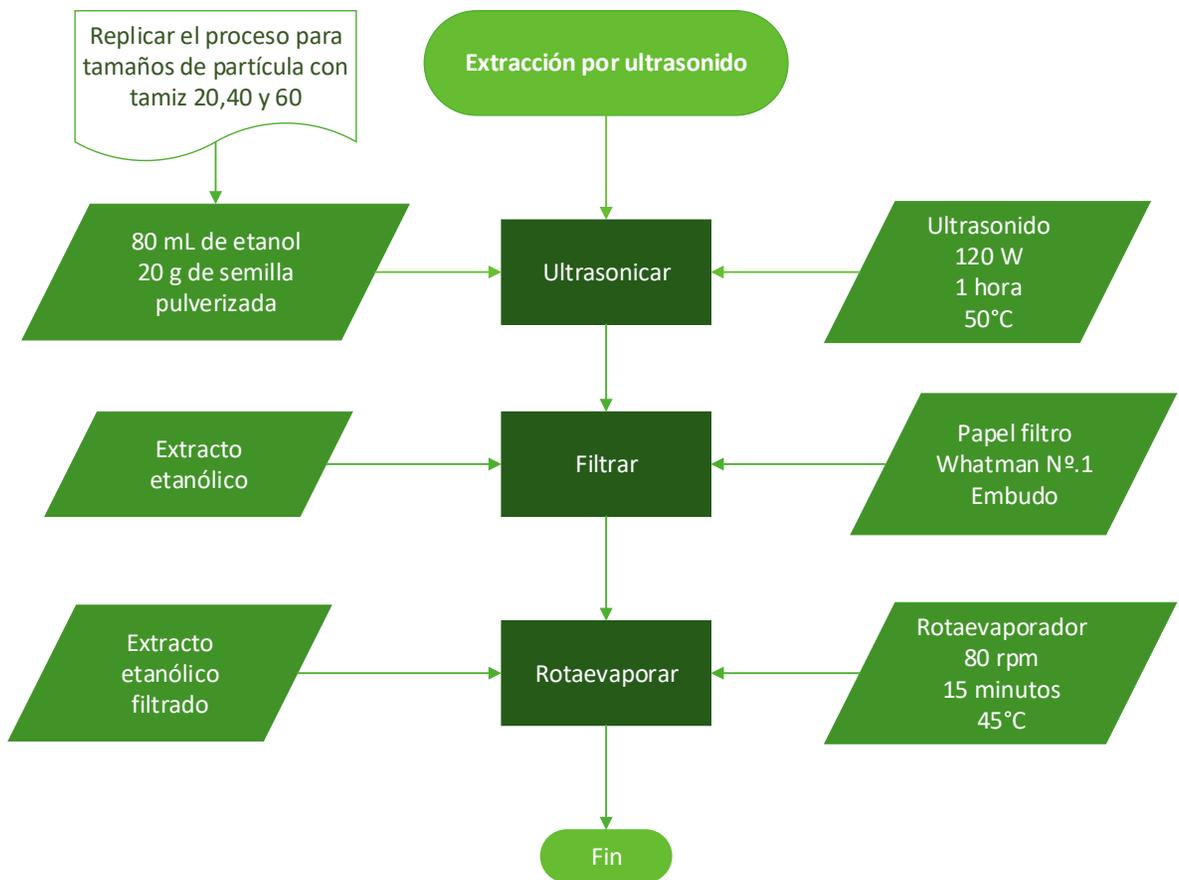
Fuente: elaboración propia.

3.3.3 Descripción del método de extracción por ultrasonido. El siguiente proceso que se muestra en la ilustración 21, fue replicado para diferentes números de malla (20,40 y 60) obtenidas del tamizado y por triplicado; tomando una muestra representativa de 20 gramos de harina de semilla en 80 mililitros de etanol al 96%. Posteriormente se filtró el extracto empleando papel filtro Whatman N°.1, luego se rotaevaporó el solvente empleando un rotaevaporador Heidolph a 45 °C y se almacenó bajo refrigeración a 4°C, hasta su posterior análisis.

⁹⁴ SEGOVIA, Francisco., *et al*, Avocado seed: Modeling extraction of bioactive compounds, Ingeniería química, Universidad de Catalonia, Barcelona, España, 2016.

⁹⁵ PANJA, Palash, Green extraction methods of food polyphenols from vegetable materials, 2017.

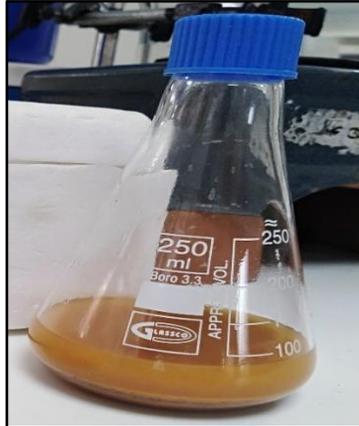
Ilustración 21. Diagrama de proceso de extracción por el método de ultrasonido.



Fuente: elaboración propia

El extracto que se obtuvo en el ultrasonido permite evidenciar dos fases por lo cual fue necesario filtrar para obtener el sobrenadante sin material particulado.

Ilustración 22. Extracto etanolico sonicado.



Fuente: Elaboración propia.

3.3.4 Rendimiento de la extracción. Para determinar el porcentaje de rendimiento de extracción se empleará la ecuación presentada a continuación.

$$\% \text{ rendimiento} = \frac{\text{masa de extracto seco (g)}}{\text{masa seca de harina de semilla (g)}} \times 100$$

Para determinar la masa de extracto seco, se tiene en cuenta la densidad que presenta el extracto la cual fue determinada como se muestra a continuación:

- Masa del picnómetro vacío= 13,7781 g
- Masa del picnómetro + H₂O= 18,7901 g

Tomando como referencia la densidad del H₂O de 1 g/mL se tiene:

$$\text{Volumen del picnómetro} = \frac{\text{Masa del picnómetro} + \text{H}_2\text{O} - \text{Masa del picnómetro vacío}}{\text{Densidad del agua}}$$

$$\text{Volumen del picnómetro} = \frac{18,7901 \text{ g} - 13,7781 \text{ g}}{1 \text{ g/mL}} = 5,012 \text{ mL}$$

Finalmente obtenemos la densidad del extracto mediante:

- Malla 20

$$\rho = \frac{15,4742 - 13,7781 \text{ g}}{5,012 \text{ mL}} = 0,3384 \text{ g/mL}$$

Masa del picnómetro + extracto = 15,4742 g

- Malla 40

$$\rho = \frac{15,6319 \text{ g} - 13,7781 \text{ g}}{5,012 \text{ mL}} = 0,3699 \text{ g/mL}$$

Masa del picnómetro + extracto = 15,6319 g

- Malla 60

$$\rho = \frac{15,5831 \text{ g} - 13,7781 \text{ g}}{5,012 \text{ mL}} = 0,3601 \text{ g/mL}$$

Masa del picnómetro + extracto = 15,5831 g

Para el extracto seco se tiene un volumen de 32,1 mL para malla 20, 27,8 mL para malla 40 y 29,3 mL para malla 60, todos ellos obtenidos después de la rotaevaporación, calculando los gramos de extracto seco con la densidad se tiene:

- Malla 20

$$\text{Masa de extracto seco} = 32,1 \text{ mL} * \frac{0,3384 \text{ g}}{1 \text{ mL}} = 10,8626 \text{ g}$$

- Malla 40

$$\text{Masa de extracto seco} = 27,8 \text{ mL} * \frac{0,3699 \text{ g}}{1 \text{ mL}} = 10,2832 \text{ g}$$

- Malla 60

$$\text{Masa de extracto seco} = 29,3 \text{ mL} * \frac{0,3601 \text{ g}}{1 \text{ mL}} = 10,5509 \text{ g}$$

Una vez obtenido la cantidad de masa de extracto seco, el rendimiento de la extracción se determina como se muestra a continuación:

- Malla 20

$$\% \text{ rendimiento} = \frac{10,8626}{20 \text{ g}} \times 100 = 54,31\%$$

- Malla 40

$$\% \text{ rendimiento} = \frac{10,2832 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 100 = 51,42\%$$

- Malla 60

$$\% \text{ rendimiento} = \frac{10,5509 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 100 = 52,75\%$$

En conclusión, según los rendimientos obtenidos de las mallas evaluadas para este tipo de extracción el que presenta un mayor porcentaje es la malla 20 con 54,31%.

3.4 EXTRACCIÓN POR LIXIVIACIÓN

Este método permite realizar una extracción de forma tal que no se requieran equipos avanzados. La granulometría que se trabajó en este montaje fue la obtenida en el tamizaje realizado el cual contaba con mallas 20, 40, 60, 80, 100 y fondos.

3.4.1 Reactivos, equipos y materiales. La extracción por lixiviación requiere de:

- **Reactivos:** Alcohol etílico al 96%.
- **Equipos:** Embudo decantador de 500 mL, 1 soporte universal, 1 nuez con aro, tapón de hule, bolsa de solución, equipo de bomba, cateter, frasco tapa azul con agujero en la tapa, ámbar de 500mL, rotaevaporador Heidolph, papel filtro Whatman N^o.1, embudo, balanza analítica Nimbus®.
- **Materiales:** Harina de semillas de aguacate.

3.4.2 Condiciones de operación. Para establecer las condiciones de operación para la extracción de los compuestos fenólicos de la semilla de aguacate Hass *Persea americana mil.* se definieron a través de la tesis de grado para optar como químico, que lleva como título “Extracción y caracterización de los principios activos fenólicos con actividad antioxidante a partir de residuos de aguacate: epicarpio y semilla (*Persea americana*) por Rosero J.,⁹⁶ con algunas modificaciones, tal como se establece en la tabla 11, una vez obtenido el extracto concentrado se almacenó bajo refrigeración en un frasco ámbar hasta su posterior análisis.

Tabla 10. Condiciones de operación para la extracción por ultrasonido

Condiciones de operación	Medida
Temperatura de extracción	Ambiente, aproximado 19°C
Tiempo de extracción	1 semana
Flujo de ingreso del solvente	0,02mL/s
Tiempo de rotaevaporación	15 minutos
Revoluciones por minuto	80 rpm
Temperatura de rotaevaporación	45°C

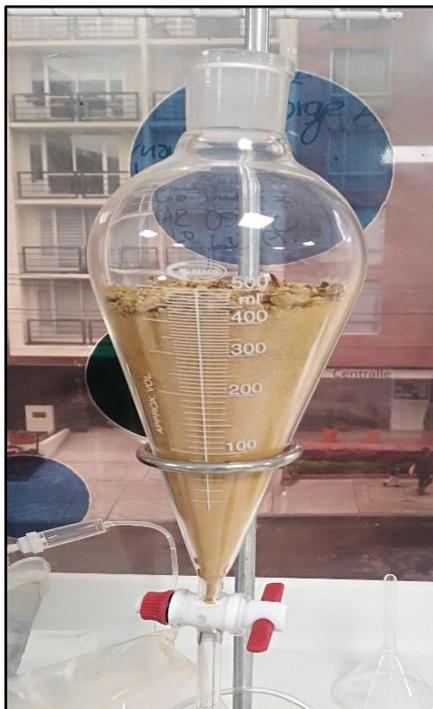
Fuente: elaboración propia.

3.4.3 Descripción del método de extracción por lixiviación. Inicialmente se pesaron 10 gramos de malla 20, 50 gramos de malla 40, 20 gramos de malla 60, 15 gramos para la malla 80, 12,5 gramos para la malla 100 y 7 gramos para fondos, para un total de 114,5 gramos, los cuales se agregaron al embudo.

⁹⁶ ROSERO, J. Op. cit., p. 47-49.

Se adicionó una cantidad de 150 mL de etanol al 96%, suficiente para cubrir toda la superficie del material vegetal, con un caudal de 0,02 mL/s y que a su vez este penetrara todo el material. El líquido pasaba por una llave de paso e ingresaba a un frasco ámbar, finalmente este extracto obtenido se recirculo durante 1 semana, se filtró empleando papel filtro Whatman N°.1, luego se rotaevaporó el solvente empleando un rotaevaporador Heidolph a 45 °C y se almacenó bajo refrigeración a 4°C, hasta su posterior análisis.

Ilustración 23. Granulometría.



Fuente: elaboración propia.

Ilustración 24. Montaje primer día



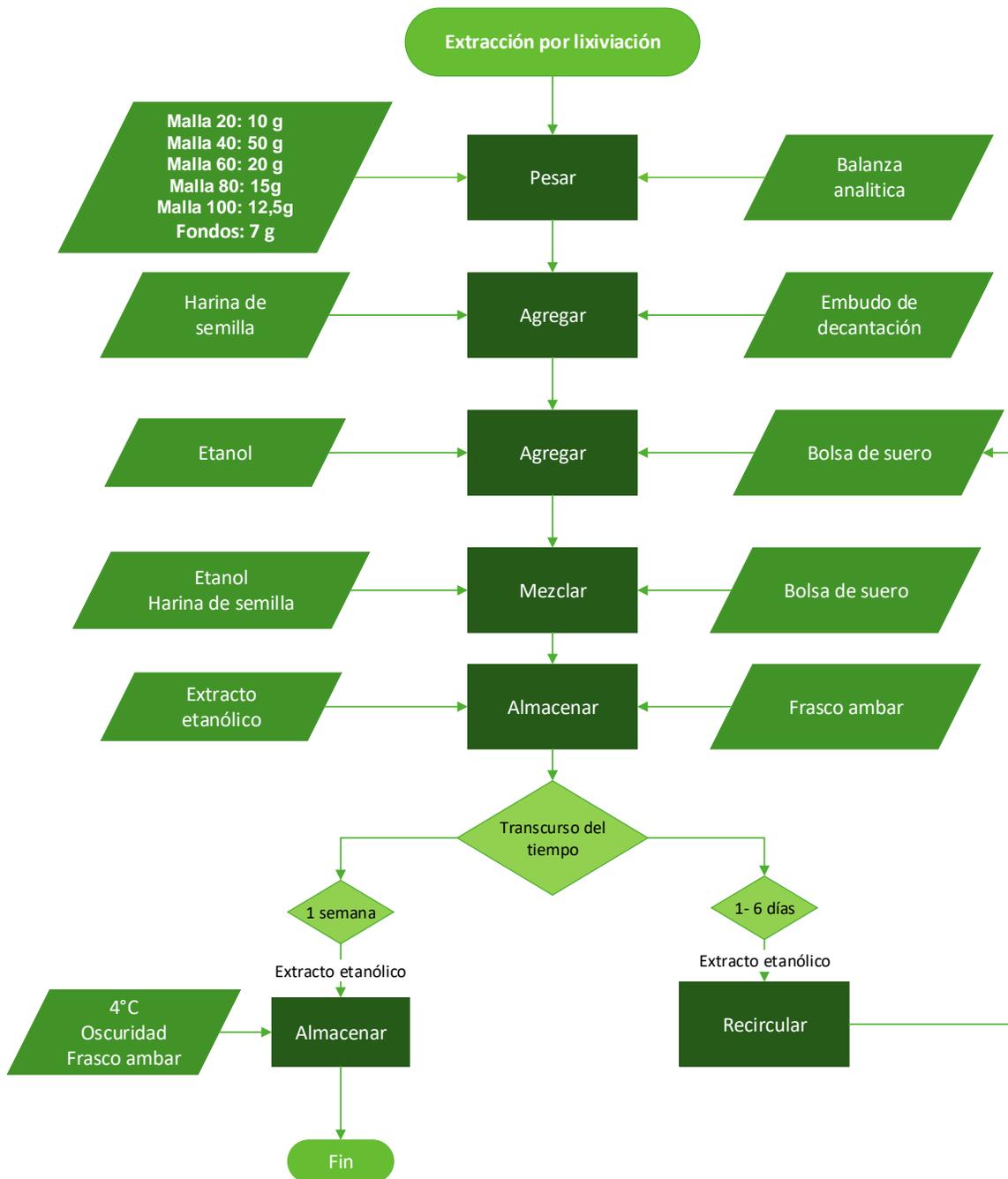
Fuente: elaboración propia.

Ilustración 25. Recirculación final



Fuente: elaboración propia.

Ilustración 26. Diagrama de proceso de extracción por el método de lixiviación.



Fuente: elaboración propia.

3.4.4 Rendimiento de la extracción. Es clave identificar que para los procesos de extracción el solvente tiene un efecto sobre los rendimientos. Para determinar el porcentaje de rendimiento de extracción se empleará la ecuación presentada a continuación.

$$\% \text{ rendimiento} = \frac{\text{masa de extracto seco (g)}}{\text{masa seca de harina de semilla (g)}} \times 100$$

Para determinar la masa de extracto seco, se tiene en cuenta la densidad que presenta el extracto la cual fue determinada como se muestra a continuación:

- Masa del picnómetro vacío= 13,7781 g
- Masa del picnómetro + H₂O= 18,7901 g
- Masa del picnómetro + extracto = 17,9432 g

Tomando como referencia la densidad del H₂O de 1 g/mL se tiene:

$$\text{Volumen del picnómetro} = \frac{\text{Masa del picnómetro} + \text{H}_2\text{O} - \text{Masa del picnómetro vacío}}{\text{Densidad del agua}}$$

$$\text{Volumen del picnómetro} = \frac{18,7901 \text{ g} - 13,7781 \text{ g}}{1 \text{ g/mL}} = 5,012 \text{ mL}$$

Finalmente obtenemos la densidad del extracto mediante:

$$\rho = \frac{17,9432 \text{ g} - 13,7781 \text{ g}}{5,012 \text{ mL}} = 0,831 \text{ g/mL}$$

Para el extracto seco se tiene un volumen de 105 mL después de la rotaevaporación, calculando los gramos de extracto seco con la densidad se tiene:

$$\text{Masa de extracto seco} = 105 \text{ mL} * \frac{0,831 \text{ g}}{1 \text{ mL}} = 87,255 \text{ g}$$

Una vez obtenido la cantidad de masa de extracto seco, el rendimiento de la extracción se determina como se muestra a continuación:

$$\% \text{ rendimiento} = \frac{87,255 \text{ g}}{114,5 \text{ g}} \times 100 = 76,205\%$$

3.5 PRUEBA CUALITATIVA PARA COMPUESTOS FENÓLICOS PRESENTES EN EL EXTRACTO

Se usó el método de cribado fitoquímico de Olga Lock (1994), para este método colorimétrico, se cataloga cualitativamente la presencia del metabolito en "+++" (abundante), "++" (moderado), "+" (leve) y "-" (ausencia). Donde se evalúa la presencia de los metabolitos de la semilla de aguacate Hass: fenoles (reactivo cloruro férrico al 1%).⁹⁷

3.5.1 Análisis fitoquímico. La marcha fotoquímica de los extractos ultrasonido, lixiviación y soxhlet de la semilla de aguacate Hass (*Persea americana Miller*), da la presencia de contenido de fenoles en el extracto usando como solvente en el extracto: alcohol etílico.⁹⁸ Se registra cualitativamente el contenido de polifenoles presentes en el extracto por la apariencia de un complejo coloreado, que va de un rango de verde a negro, donde el negro es el extracto más concentrado entre las muestras.

Tabla 11. Análisis fitoquímico

Reactivo	Ultrasonido	Lixiviación	Soxhlet
FeCl ₃	+++	++	++

Fuente: elaboración propia.

Ilustración 27. Análisis Fitoquímico de los extractos obtenidos



Fuente: elaboración propia.

En los extractos obtenidos de la semilla de aguacate (*Persea americana mill*), para su análisis fitoquímico en los análisis de color realizados utilizando como ensayo el uso de $FeCl_3$ (tricloruro férrico), se evidencia que de acuerdo a la teoría los análisis fitoquímicos anteriormente mencionados tiene presencia de compuestos fenólicos en los diferentes extractos etanolicos⁹⁹, donde su concentración mayormente

⁹⁷ SÁNCHEZ-HUMALA, R., et al. Actividad antioxidante y marcha fotoquímica de los capítulos de *Tagetes filifolia* Lag." pacha anís." En: Horizonte médico enero-marzo, 2017, vol. 17 no.1, p 18-24.

⁹⁸ Ibid., p19.

⁹⁹ HERNÁNDEZ, et al., Análisis fitoquímico de la semilla de *Persea americana* Mills (aguacate) y evaluación de su actividad antioxidante En: Universidad de Iberoamérica, Facultad de Farmacia.vol.1, no 1110, p. 3.

evidenciada fue en la extracción por lixiviación de un color marrón concentrado verdoso , seguido del método de extracción por ultrasonido.

3.6 CONTENIDO DE POLIFENOLES TOTALES

Para su determinación en contenido de polifenoles de cada extracto, se realizó por el ensayo Folin-Ciocalteu se tomaron 250 µl de cada disolución patrón de ácido gálico procedente de las extracciones realizadas mencionadas anteriormente y se colocaron en matraces de 25 ml , posterior a esto se añadió 15 ml de agua destilada y 1.25 ml del reactivo de Folin-Ciocalteu y después de 10 minutos de reposo se adicionan 3.75 ml de disolución carbonato sódico al 7.5% llevándolo a un volumen final del aforo de 25 ml con agua destilada e inmediatamente se disponen en frascos ámbar de 30 ml, agitando vigorosamente ,para que transcurra la reacción durante un tiempo de 2 h ,a pH básico, dando lugar a una coloración azul susceptible de ser determinada espectrofotométricamente a 765 nm. Con esto, los resultados serán expresados en mg/l de ácido gálico en el extracto etanólico. ¹⁰⁰

3.6.1 Reactivos, equipos y materiales.

- **Reactivos:** Ácido Gálico, Agua destilada, Reactivo de Folin-Ciocalteu, Carbonato sódico 7,5%.
- **Equipos:** Celdas espectrofotómetro, Caja de puntas amarillas, balón aforado 100 ml, probeta 25 ml, Balones aforados de 10 ml, Agitador de vidrio, Vasos de precipitado 50 ml, Micro pipeta de 20 a 200µm, Vidrio de reloj, Frascos Ámbar, Espátula, Pipeteador, pipeta de 1 ml y 2 ml, Espectrofotómetro UV-Visible, Balanza analítica.
- **Materiales:** Extractos Etanolicos de Ultrasonido (Malla.20, Malla.40, Malla.60), Lixiviación y Soxhlet.

3.6.2 Curva de calibración (ácido gálico). Para cuantificar los componentes activos, la curva de calibración se realiza con concentraciones conocidas Solución madre 100 mg/l de ácido gálico que se construyen a partir de diluciones de 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16 ppm, donde se registran un rango de su absorbancia.¹⁰¹ con esto, se realiza una ecuación de correlación de estas curvas (generalmente lineal) del tipo $y = ax + b$, donde y corresponde a la absorbancia de la muestra y, y a x como la concentración.¹⁰² Luego, se convierte los valores de absorbancia (nm) a muestra en concentración (µg / mL), donde se hace imprescindible colocar la absorbancia

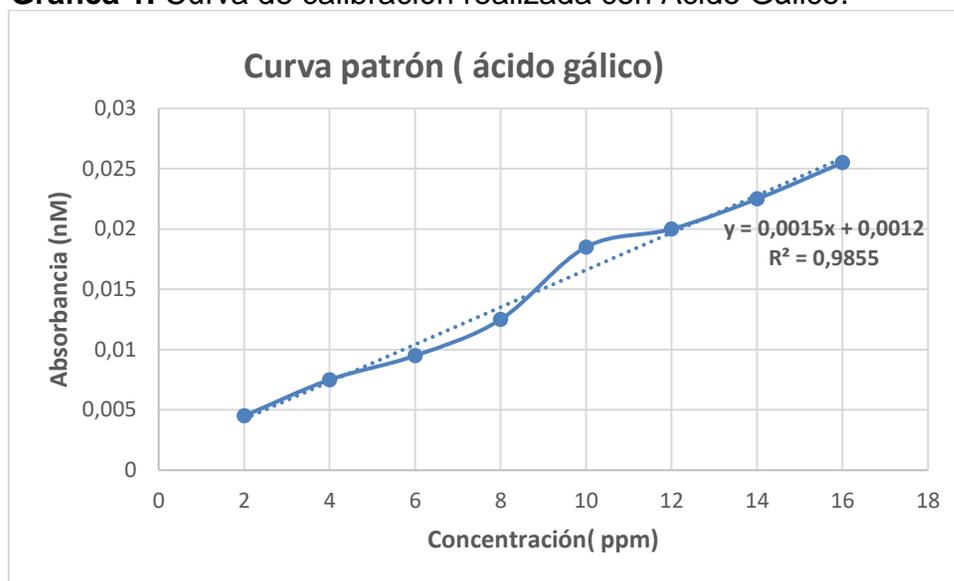
¹⁰⁰ GARCÍA, *et al.*, Determinación de polifenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu. 2015.

¹⁰¹ HERNANDEZ., *Op cit.*, p.8

¹⁰² DE AMORIM, *et al.*, Standard operating procedures (SOP) for the spectrophotometric determination of phenolic compounds contained in plant samples. En Latest research into quality control. Intech Open, 2012.

de la muestra en la ecuación como “y”¹⁰³ cabe aclarar que el coeficiente de correlación (R²) muestra la capacidad del método para proporcionar proporciones directas de la concentración del analito y la respuesta del dispositivo, también el intervalo entre los valores escalares más bajos y más altos, que también se denomina rango de linealidad, se determinará con precisión y exactitud.¹⁰⁴ Por ello El coeficiente de correlación debe ser igual a o mayor que 0,98.

Gráfica 1. Curva de calibración realizada con Acido Gálico.



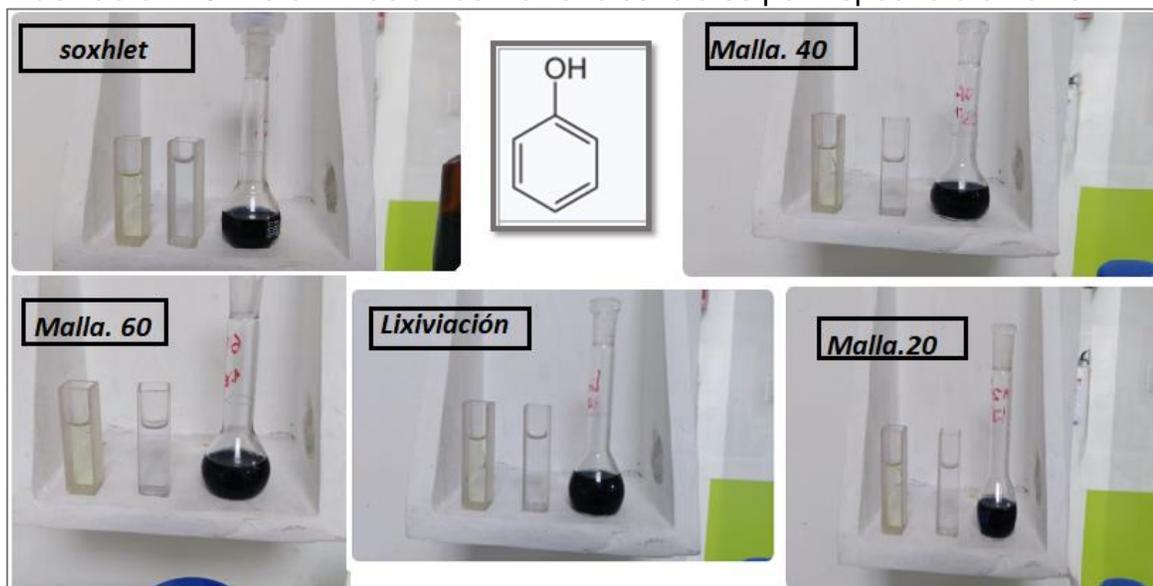
Ecuación de la calibración → $y = 0.0015x + 0.0012$. $R^2 = 0.9855$

3.6.3 Determinación del contenido de Polifenoles totales en el extracto. Una vez se tenga la curva de calibración del ácido gálico, donde se grafica cada absorbancia con su respectiva concentración de ácido gálico con un coeficiente de correlación debe ser igual a o mayor que 0,98, se procede a sustituir el valor de la absorbancia a los extractos etanolicos de Lixiviación, Soxhlet y Ultrasonido (Malla.20, Malla.40, Malla.60), para ello el valor obtenido por la lectura estará en la ordenada “y” y al despejar “x”, correspondería a la concentración equivalente de ácido gálico en el extracto etanólico. Cabe aclarar, que para que este valor de la absorbancia pudiera ser leído en el espectrofotómetro, se tuvo que hacer una dilución de (1:10) para cada uno de los extractos y se llevaron a sus respectivas diluciones. Con esto mismo se hicieron los respectivos cálculos, para establecer el valor real de cada una de las concentraciones iniciales. Los resultados están expresados en mg de ácido gálico en el extracto etanólico.

¹⁰³ Ibid., p 11.

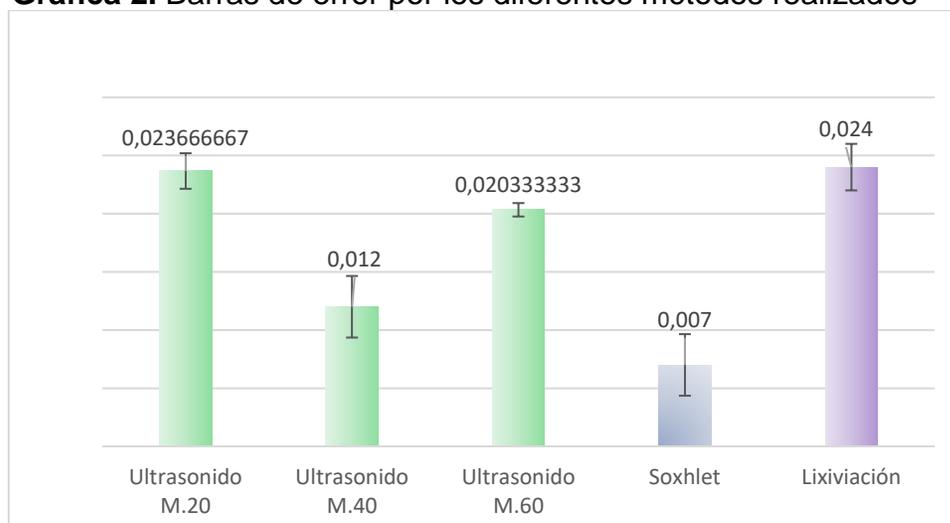
¹⁰⁴ Ibid., p 12.

Ilustración 28. Determinación de Polifenoles totales por Espectrofotometría.



Fuente: elaboración propia

Gráfica 2. Barras de error por los diferentes métodos realizados



Fuente: elaboración propia

- **Contenido de polifenoles totales**

La curva de calibración genera una ecuación de la recta, la cual presenta un R^2 de 0,9855 lo que se ajusta a un modelo linealizado y con esta ecuación se procedió a calcular el contenido de polifenoles totales, los datos que se presentan a continuación son generados por un promedio de absorbancias, ya que cada experimento se tomó por triplicado tal como se muestra en el anexo A.

$\text{Ecuación de la calibración} \rightarrow y = 0.0015x + 0.0012 \cdot R^2 = 0.9855$

- **Ultrasonido Malla.20**

$$y = 0.0015x + 0.0012 \cdot R^2 = 0.9855$$

$$x = \frac{0,0236 - 0.0012}{0.0015} = 14,977 \frac{mg}{l} \approx (1:10) \approx 149,7 \frac{mgEAG}{l}$$

- **Ultrasonido Malla.40**

$$y = 0.0015x + 0.0012 \cdot R^2 = 0.9855$$

$$x = \frac{0,012 - 0.0012}{0.0015} = 7,2 \frac{mg}{l} \approx (1:10) \approx 72 \frac{mgEAG}{l}$$

- **Ultrasonido Malla.60**

$$y = 0.0015x + 0.0012 \cdot R^2 = 0.9855$$

$$x = \frac{0,02033 - 0.0012}{0.0015} = 12,755 \frac{mg}{l} \approx (1:10) \approx 127,55 \frac{mgEAG}{l}$$

- **Lixiviación**

$$y = 0.0015x + 0.0012 \cdot R^2 = 0.9855$$

$$x = \frac{0,024 - 0.0012}{0.0015} = 15.2 \frac{mg}{l} \approx (1:10) \approx 152 \frac{mgEAG}{l}$$

Tabla 12. Método de mejor contenido de Polifenoles

Método de extracción	Concentración de polifenoles totales ($\frac{mgEAG}{l}$)
Lixiviación	152
Ultrasonido Malla.20	149,7
Ultrasonido Malla.60	127,55
Ultrasonido Malla.40	72

Fuente: elaboración propia.

Para la determinación de contenido de polifenoles fue necesario emplear cada una de las muestras a una dilución de (1:10) para que estuvieran en el rango de absorbancias para la curva de calibración y así se pudiera obtener el contenido polifenólicos equivalente de ácido gálico, donde lo reportado por SOONG para contenido de polifenoles en la semilla de aguacate var. Hass, fue de $88.2 \pm 2.2 \text{ mg/g}^{-1}$ ¹⁰⁵

Existen diversos autores que trabajan con combinaciones de etanol agua a diferentes concentraciones extractos de semillas de aguacate. En la tabla 14 se establecen las condiciones de extracción con etanol y los resultados obtenidos. La conversión a las mismas unidades se realizó para permitir comparaciones fáciles.¹⁰⁶

Tabla 13. Condiciones de extracción utilizando etanol como solvente

Muestra de semilla	Condiciones de extracción	Contenido total de Polifenoles ($\frac{\text{mgEAG}}{\text{L}}$)	Referencia
<i>Persea americana</i>	Etanol/agua (1:1, v/v), 70°C	88.2	107
<i>Persea americana</i>	Etanol/agua (56:44, v/v), 63°C	45.01	108
<i>Persea americana</i>	Etanol/agua (1:1, v/v), 200°C, 11 MPa	—	109
<i>Persea americana</i>	Etanol/agua (80:20, v/v)	57.3	110

Fuente: elaboración propia.

¹⁰⁵ SOONG, et al., Antioxidant activity and phenolic content of selected fruit seeds En: Food chemistry, 2004, vol. 88, no 3, p. 411-417.

¹⁰⁶ SEGOVIA, Francisco., et al., avocado seed: a comparative study of antioxidant content and capacity in protecting oil models Ingeniería química, Universidad de Cataluña, Barcelona, España, 2018.

¹⁰⁷ SOONG, y.y., et al, Antioxidant activity and phenolic content of selected fruit seeds by HPLC-DAD-ESI-QTOF-MS. En: Food Chem ,2018, Vol 8. p. 411–417.

¹⁰⁸ GÓMEZ, F.S., et al, Avocado seeds: Extraction optimization and possible use as antioxidant in food. En: antioxidants, 2018, vol.3, p. 439–454.

¹⁰⁹ FIGUEROA, J.G., et al, characterization of phenolic and other polar compounds in the seed and seed coat of avocado by HPLC-DAD-ESI-QTOF-MS. En: Food Res. Int. 2018, Vol 105, p .752–763.

¹¹⁰ TREMOCOLDI, M.A., et al, Exploration of avocado by-products as natural sources of bioactive compounds. Vol 1 En: OnepLoS Food, 2018, Vol 13, p .1-12.

3.7 ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

Para la evaluación de la actividad antioxidante de cada uno de los extractos se midieron 0.1 mL con una micro pipeta de 20 a 200µm y en cada uno de los métodos de extracción (ultrasonido 20-40-60, Soxhlet y lixiviación) se añadieron 2.9 ml de solución de DPPH a cada uno de los frascos ámbar de 30 ml, se agito vigorosamente y se mantuvo en oscuridad por 1 h para hacer posible la reacción. posteriormente se registró el valor de la absorbancia a 517 nm, después de 30 min donde cada uno de los extractos a analizar se expresaron en µmol equivalente de trolox/g de muestra.

3.7.1 Curva de calibración (Trolox). Para determinar la capacidad antioxidante por el método DPPH se preparó una solución patrón de 2mg de trolox en 10 ml de etanol al 96% con una concentración de 200 ppm, a partir de ésta se prepararon soluciones de concentración 100,300,400,500,600,700,800 µmol de trolox para curva estándar de DPPH, con estos datos se construyó una curva de calibración de absorbancia (517 nm) contra concentración de trolox.¹¹¹ se registran un rango de su absorbancia, con esto, se realiza una ecuación de correlación de estas curvas (generalmente lineal) del tipo $y = ax + b$, donde y corresponde a la absorbancia de la muestra y, y a x como la concentración.¹¹² Luego, se convierte los valores de absorbancia (nm) a muestra en concentración (µg / mL), donde se hace imprescindible colocar la absorbancia de la muestra en la ecuación lineal donde se registra el eje de las ordenadas “y”¹¹³ cabe aclarar que el coeficiente de correlación (R²) muestra la capacidad del método para proporcionar proporciones directas de la concentración del analito y la respuesta del dispositivo, también el intervalo entre los valores escalares más bajos y más altos, que también se denomina rango de linealidad, Se determinará con precisión y exactitud.¹¹⁴ Por ello el coeficiente de correlación debe ser igual a o mayor que 0,98.

3.7.2 Reactivos, Equipos y Materiales.

- **Reactivos:** Trolox (Ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico), Agua destilada, Reactivo Dpph (2,2-difenil-1- (2,4,6-trinitrofenil) hidrazilo), Etanol al 96%.
- **Equipos:** Celdas espectrofotómetro, Caja de puntas amarillas, balón aforado 100 ml, probeta 25 ml, Balones aforados de 10 ml, Agitador de vidrio, Vasos de

¹¹¹ FIGUEROA, J.G., *et al*, characterization of phenolic and other polar compounds in the seed and seed coat of avocado by HPLC-DAD-ESI-QTOF-MS. En: Food Res. Int. 2018, Vol 105, p .752–763.

¹¹¹ TREMOCOLDI, M.A., *et al*,

Exploration of avocado by-products as natural sources of bioactive compounds. Vol 1 En: OnePLoS Food, 2018, Vol 13, p .1-12.

d in plant samples. En Latest research into quality control. IntechOpen, 2012.

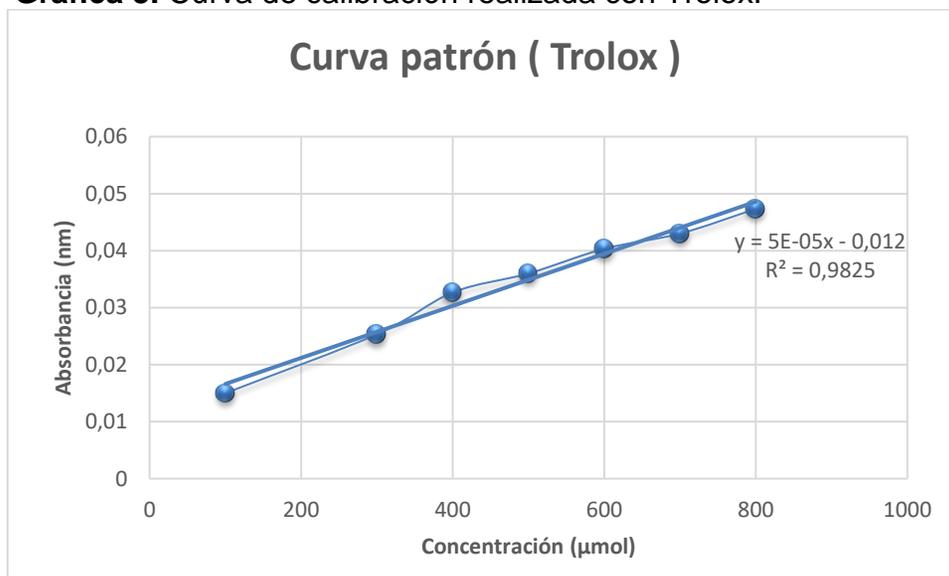
¹¹³ Ibid., p 11

¹¹⁴ Ibid., p 12

precipitado 50 ml, Micro pipeta de 20 a 200 μ m, Vidrio de reloj, Frascos Ámbar, Espátula, Pipeteador, pipeta de 1 ml y 2 ml, Espectrofotómetro UV-Visible, Balanza analítica.

- **Material:** Extractos etanolicos de ultrasonido y lixiviación.

Gráfica 3. Curva de calibración realizada con Trolox.



Fuente: elaboración propia.

Ecuación de la calibración $\rightarrow y = 5 * 10^{-5}x - 0.012 . R^2 = 0.9825$

La ecuación de la calibración nos permite establecer las concentraciones de los extractos para la actividad antioxidante, la cual estará dada en μ mol equivalente a trolox por gramo de muestra, se debe tener en cuenta que las absorbancias de los extractos no superen el rango obtenido por la curva. Para estimarlo tenemos un R^2 equivalente a 0,9825 por lo cual es una curva con buena confiabilidad.

3.7.3 Preparación del radical DPPH. se pesó 4 mg del radical DPPH en un balón aforado de 100 ml de etanol al 96% y posteriormente la solución en un frasco ámbar se dispuso en un equipo de ultrasonido a sonicar durante 20 min para lograr la adecuada disolución del radical.¹¹⁵

¹¹⁵ ZAVALETA.Op. cit., p.49.

Ilustración 29. Solución DPPH



Fuente: elaboración propia.

3.7.4 Determinación de actividad antioxidante de los extractos. En la sección 3.7 se describe la metodología para la preparación de las muestras y su pertinente medición de absorbancia, donde los promedios que se muestran a continuación se generaron a partir de la tabla 19 que se encuentra en el Anexo B.

$$\text{Ecuación de la calibración} \rightarrow y = 5 * 10^{-5}x - 0.012 . R^2 = 0.9825$$

Ultrasonido Malla.20

$$y = 5 * 10^{-5}x - 0.012 . R^2 = 0.9825$$
$$x = \frac{0,001467 + 0.012}{5 * 10^{-5}} = 269,33 \frac{\mu\text{mol Eq Trolox}}{\text{mg}}$$

Ultrasonido Malla.40

$$y = 5 * 10^{-5}x - 0.012 . R^2 = 0.9825$$
$$x = \frac{0,001 + 0.012}{5 * 10^{-5}} = 260 \frac{\mu\text{mol Eq Trolox}}{\text{mg}}$$

Ultrasonido Malla.60

$$y = 5 * 10^{-5}x - 0.012 . R^2 = 0.9825$$
$$x = \frac{0,0010333 + 0.012}{5 * 10^{-5}} = 260,667 \frac{\mu\text{mol Eq Trolox}}{\text{mg}}$$

Lixiviación

$$y = 5 * 10^{-5}x - 0.012 . R^2 = 0.9825$$
$$x = \frac{0,0017667 + 0.012}{5 * 10^{-5}} = 275,333 \frac{\mu\text{mol Eq Trolox}}{\text{mg}}$$

Tabla 14. Determinación de la actividad antioxidante del extracto

Método de Extracción	Actividad antioxidante $\left(\frac{\mu\text{mol Eq Trolox}}{\text{g de muestra}}\right)$
Lixiviación	275,33
Ultrasonido Malla.20	269,33
Ultrasonido Malla.60	260,66
Ultrasonido Malla.40	260

Fuente: elaboración propia.

Para la determinación de la actividad antioxidante fue necesario emplear cada una de las muestras a una dilución de (1:10) para cada una para que estuviera en el rango de absorbancias para la curva de calibración y así se pudiera obtener la actividad antioxidante equivalente a trolox.

También, la actividad antioxidante contrastada frente a otros frutos que han sido estudiados que se encuentran dentro de la literatura. Se encuentra que para la actividad antioxidante propiamente de su extracto de la semilla de aguacate Hass se tiene un valor de (176.55 $\mu\text{mol Trolox/g}$ material vegetal), valor que es mejor en comparación con otros frutos como frambuesas¹¹⁶ (21,5 55 $\mu\text{mol Trolox/g}$ peso fresco) y moras *var jumbo* (146,89 $\mu\text{mol Trolox/g}$ peso fresco)¹¹⁷.

A continuación, se muestra en la tabla 15, que los métodos de mayor actividad antioxidante, se presentan cuando el solvente en este caso etanol, incrementa su concentración

¹¹⁶Fu, Li, et al. "Antioxidant capacities and total phenolic contents of 62 fruits". E: Food chemistry, vol. 129.2, 2011, p.345-350.

¹¹⁷ Ibid., p.350

Tabla 15. Condiciones de extracción utilizando etanol como solvente

Muestra de semilla	Condiciones de extracción	DPPH ($\frac{mg \text{ de ácido galico}}{g \text{ de peso seco}}$)	Referencia
<i>Persea americana</i>	Etanol/agua (1:1, v/v), 70°C	No se logra determinar	118
<i>Persea americana</i>	Etanol/agua (56:44, v/v), 63°C	15	119
<i>Persea americana</i> var. Hass	Etanol/agua (1:1, v/v), 200°C, 11 MPa	464.9	120
<i>Persea americana</i> var. Hass	Etanol/agua (80:20, v/v)	410.7	121

Fuente: elaboración propia

Un método simple, rápido y comúnmente utilizado para la evaluación de capacidad antioxidante, y tiene la facilidad de ofrecer resultados reproducibles donde haciendo uso de un antioxidante sintético como el trolox, se utilizan a menudo como controles positivos para estas pruebas¹²².

3.8 ANÁLISIS COMPARATIVO ENTRE METODOS DE EXTRACCIÓN (ULTRASONIDO Y LIXIVIACIÓN)

Se realizó un análisis comparativo con el fin de establecer el mejor método de extracción del conservante natural, los cuales fueron elegidos mediante la metodología PUGH aplicada en la sección 3.1, donde se replicaron los métodos de ultrasonido y lixiviación; una vez realizados los procesos de extracción, se analizaron los resultados de los mismos, tomando en cuenta algunos factores tales como el rendimiento del proceso, la temperatura de operación del proceso, el consumo de energía, el contenido total de polifenoles totales, lo que a su vez va estrechamente relacionado con la actividad antioxidante. Cabe aclarar que la lixiviación se realizó con harina de semilla de aguacate ordenado granulométricamente (malla 20,40,60, 80, 100 y fondos), pero el ultrasonido fue evaluado en tamaños de partículas aceptables para el proceso pertenientes a las mallas 20, 40 y 60.

¹¹⁸ SOONG, Op. cit. p. 411–417.

¹¹⁹ GÓMEZ, Op. cit., p. 439–454.

¹²⁰ FIGUEROA, Op. cit., p. 752–763.

¹²¹ TREMOCOLDI, Op. cit., p. 1-12.

¹²² SOONG, Op. cit., p.3

En cuanto a la temperatura de operación, tal como se describe en la sección 3.1 esta no puede exceder de los 60°C¹²³ puesto que a esta temperatura se degradan los compuestos fenólicos los cuales se usarán como conservante natural. Para este parámetro de operación la lixiviación se realizó a temperatura ambiente, lo cual era ideal para obtener una mayor cantidad de compuestos fenólicos, contrario a esto para el ultrasonido se trabajó a 50°C ya que a una temperatura inferior no era posible la extracción de estos compuestos, según lo estableció Segovia¹²⁴. Sin embargo, para la lixiviación el tiempo es mayor ya que se recurrió a una semana para finalizar la extracción, mientras que el ultrasonido se operó por 1 (una) hora.

El consumo de energía para la lixiviación fue nulo, ya que el montaje al que se recurrió fue sencillo de operación manual, mientras que el equipo Digital Ultrasonic Cleaner DH.WUC. D06H tiene un consumo de energía de 0,51 kWh.

Para el rendimiento del proceso de extracción la lixiviación fue superior con un 76,205% y el ultrasonido se realizó por diferentes tamaños de partícula, donde la malla 20 obtuvo un rendimiento de 54,31%, malla 40 de 51,42% y malla 60 de 52,75%.

Finalmente, el contenido de compuestos fenólicos totales expresados en miligramos equivalentes de ácido gálico (mgEAG) por litro, donde la lixiviación obtuvo $152 \frac{mgEAG}{l}$ y el ultrasonido malla 20 con $149,7 \frac{mgEAG}{l}$ donde este último fue el más representativo de las tres mallas, lo cual está relacionado con el rendimiento de extracción donde esta malla fue para este método de extracción quien mayor rendimiento tuvo entre las tres evaluadas. Lo anterior está relacionado directamente con la actividad antioxidante, puesto que estos son considerados como compuestos antioxidantes, para lo cual la lixiviación tuvo una actividad antioxidante de $275,333 \frac{\mu mol Eq Trolox}{mg}$ y el ultrasonido malla 20 de $269,33 \frac{\mu mol Eq Trolox}{mg}$.

Por lo anteriormente evaluado de las dos técnicas de extracción y añadiendo que esto también se evaluó con el fin de ser replicado por una comunidad, se optó por seleccionar la lixiviación como método de extracción del conservante natural a partir de la semilla de aguacate variedad Hass (*Persea americana mill.*) y al cual se realizó las pruebas para el desempeño en pulpa de aguacate de la misma variedad, el cual se explica en el capítulo 4.

¹²³ KOSIŃSKA, Agnieszka, *et al.* Op. cit., p.4616

¹²⁴ SEGOVIA, Francisco., *et al.* Op. cit. p.215

Cuadro 8. Resumen de métodos de extracción

Extracción por ultrasonido	Extracción por lixiviación
Temperatura 50°C	Temperatura 19°C
Consumo energetico 0,51kWh	No aplica
Rendimiento de extracción 54,31%	Rendimiento de extracción 76,21%
CPT 140,7 mgEAG/L	CPT 152 mgEAG/L
Actividad antioxidante 269,33 μmolEq Trolox/mg	Actividad antioxidante 275,33 μmolEq Trolox/mg

Fuente: elaboración propia.

4. CARACTERISTICAS Y DESEMPEÑO DEL ANTIOXIDANTE OBTENIDO

En este capítulo se analizó el efecto del conservante natural extraído de la semilla de aguacate Hass (*Persea americana mil.*), mediante pruebas de laboratorio, simulando condiciones tales como la concentración de conservante (0,1, 0,3 y 0,5%) frente a la temperatura de almacenamiento (temperatura ambiente 20°C, temperatura de refrigeración 10°C y temperatura de congelación 4°C). La muestra control fue la de 0% de conservante evaluado en las diferentes temperaturas anteriormente descritas, esto se hace con el fin de comparar los tratamientos con conservantes y que desempeño tienen en la pulpa del aguacate de la misma variedad. Para la realización de las encuestas se tomó el tratamiento que presentara el menor rango de acidez y de esta manera fijar la temperatura evaluada.

En contraste con el conservante natural obtenido de la semilla de aguacate, se comparó con las mismas concentraciones y temperaturas de ácido cítrico; donde se pudo establecer las condiciones mediante el modelo planteado en la tesis de grado para optar como ingeniero de alimentos, titulada “Uso de ácido cítrico en la elaboración de guacamole y su incidencia en el tiempo de vida útil”, por Reyes Luis.¹²⁵ Para evaluar las condiciones planteadas se realizó pruebas fisicoquímicas de pH y acidez (Norma Técnica Colombiana, NTC 440¹²⁶), análisis sensorial (GTC 292: 2018¹²⁷ y GTC 293:2018¹²⁸) y análisis microbiológico para resistencia a la bacteria *Escherichia coli*, mediante un antibiograma.

4.1 ENZIMAS EN LOS ALIMENTOS

Las enzimas presentes en los alimentos producen cambios en los mismos que no siempre son deseables,¹²⁹ por tanto, debe realizarse una debida manipulación de los alimentos y conocer que factores intervienen para que una enzima provoque daños o un aspecto desagradable en el alimento.

En el caso de las frutas y vegetales los cambios que pueden producir las enzimas suelen ser desventajosos, a raíz de esto deben tomarse controles necesarios en cuanto al ambiente en que se encuentra el alimento controlando factores como

¹²⁵ REYES, Luis, Uso de ácido cítrico en la elaboración de guacamole y su incidencia en el tiempo de vida útil, Tesis para optar como ingeniero de alimentos, Universidad Técnica de Ambato, Ecuador, 2013. P. 35-59.

¹²⁶ Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación. ICONTEC. Norma Técnica Colombiana. NTC 440. Productos alimenticios. Métodos de ensayos. 2015. p.3-4.

¹²⁷ Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación. ICONTEC. Guía Técnica Colombiana. GTC 292. Análisis sensorial. Evaluación (Determinación y verificación) de la vida útil de los alimentos. 2018. P. 3-10.

¹²⁸ Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación. ICONTEC. Guía Técnica Colombiana. GTC 293. Análisis sensorial. Metodología, guía general para la realización de pruebas hedónicas con consumidores en un área controlada. 2018. p.2-46.

¹²⁹ RESTREPO, Jaime, Química de los alimentos. Un enfoque integral. Libros de textos. Primera edición. Universidad del Valle. Cali, Colombia. 2015 p. 302-303.

temperatura, humedad, ventilación y madurez, que están presentes en los procesos de cosecha, empaque, almacenamiento y procesamiento de frutas y vegetales.

4.1.1 Pardeamiento enzimático. Una etapa clave es el proceso de maduración del fruto donde ocurre la conversión enzimática de sustancias pépticas originando un ablandamiento y cambio en la textura.¹³⁰ “Un concepto clave, es el que las enzimas no aceleran las reacciones a menos que ellas estén en contacto directo con sus sustratos”¹³¹.

Una muestra del pardeamiento en frutas se muestra cuando el tejido entra en contacto directo con el oxígeno; esto genera que la enzima catalice la reacción del oxígeno con ciertos compuestos fenólicos produciendo quinonas u otros productos de la polimerización a los que se les atribuye la formación una coloración de tonalidad pardo.

4.2 CARACTERIZACIÓN CINÉTICA DE LA ENZIMA POLIFENOLOXIDASA (*Persea americana* Miller) VAR. HASS.

Como antes se ha mencionado, el consumo de aguacate en el mundo, ha presentado un problema en el oscurecimiento o pardeamiento enzimático en la pulpa de la fruta, este fenómeno es causado por la polifenoloxidasas (PPO), que están presentes en el fruto. Por ello, se identificó la cinética de reacción de la PPO presente en la semilla de aguacate Hass (*Persea americana mill.*) con la metodología planteada por Amaya, E., Tarkus, R. y Domínguez, M., en su artículo titulado “Extracción y caracterización cinética de la enzima polifenoloxidasas del aguacate (*Persea americana miller.*) var. Hass”¹³², con algunas modificaciones y finalmente, se estudió la inhibición del conservante natural establecidas con referencia a la cinética enzimática obtenida sin el conservante, determinada para las condiciones a las que este presentaba mayor velocidad de reacción de la PPO presente en la pulpa de aguacate.

4.2.1 Extracción enzimática. Para la obtención del material vegetal, se toma la materia prima tal cual viene seleccionada por la empresa productos del campo San Gregorio y se procede a trabajar a temperatura ambiente el proceso. Una vez abierto el fruto , se toma todo el aguacate (registró un peso de 145 g), se despulpa y se lleva a la pesa una cantidad de 20 g de muestra , para ser homogeneizada con una sustancia bufferada de (KH₂PO₄) y (K₂HPO₄) a 0.1 M , controlado de que el ambiente trabajado en la reacción catalizada con catecol , sea evaluada a un pH de 7.0 (la cantidad de buffer añadido es de 50 ml), una vez se tenga la mezcla (buffer

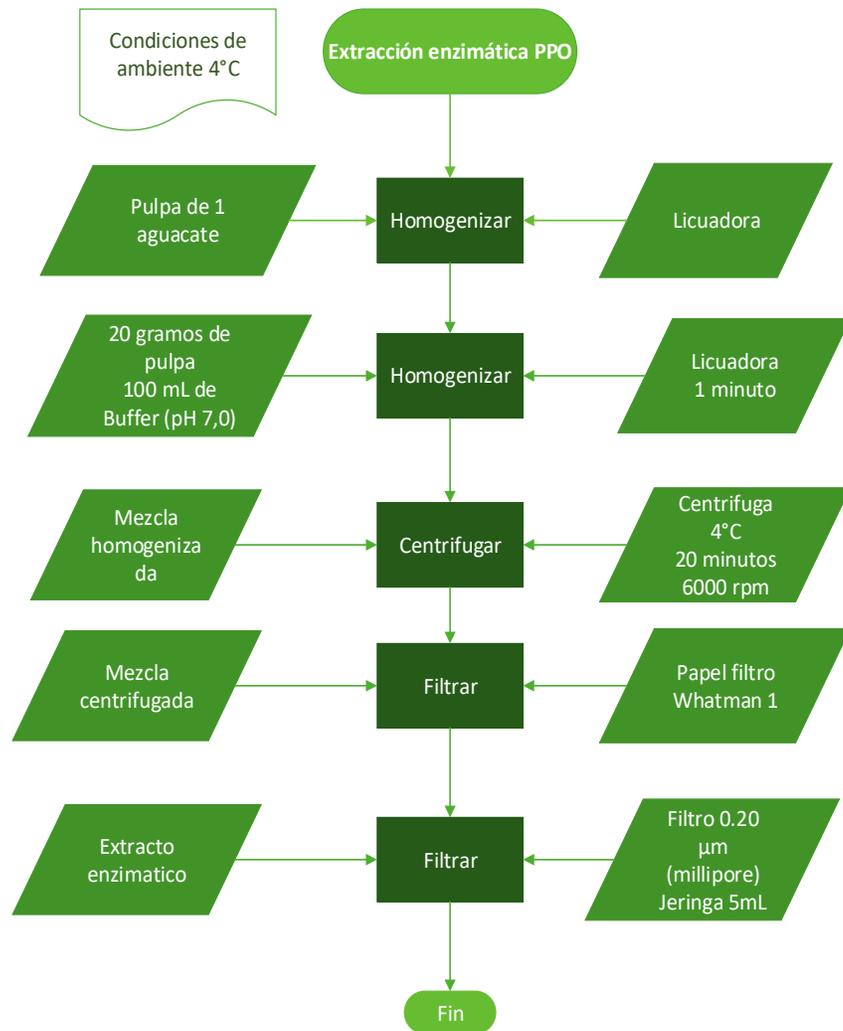
¹³⁰ *Ibíd.*, p. 306

¹³¹ RESTREPO, Jaime, Química de los alimentos. Un enfoque integral. Cali: Facultad de ciencias, 2015. p.306

¹³² AMAYA, E., *et al.*, Extracción y caracterización cinética de la enzima polifenoloxidasas del aguacate (*Persea americana miller.*) Var. Hass, Revista de la facultad de ingeniería química, Universidad Autónoma de Yucatán, México, 2008, p.10-16

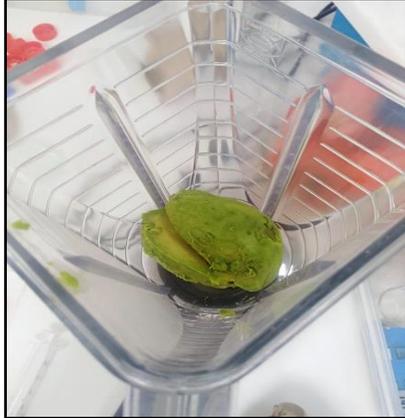
con la pulpa) ,se procede a llevar la mezcla en tubos falcón a una centrifuga a 6000 rpm a 4°C durante 20 min, mostrado en la ilustración , después de la centrifugación se realiza un montaje de filtración con embudo y papel filtro Whatman 1, cuidando de que el extracto que sea recuperado esté a una temperatura óptima de trabajo, por lo que se en baño de maría se dispone de vasos de precipitado de 1000 ml y de 500 ml con hielo, con el objetivo de liberar la enzima que está contenida en el fruto. con esto mismo, se hace necesario realizar una nueva filtración del extracto debido a que dentro de la obtención del extracto queda con partes de la muestra vegetal, lo cual hace que exista desviación en las mediciones, por esto se usa un filtro millipore de 0.20 micrómetros y con la ayuda de una jeringa se obtiene el extracto líquido que será llevado a la medición.

Ilustración 30. Diagrama de proceso de la extracción de la PPO de la pulpa de aguacate.



Fuente: elaboración propia.

Ilustración 31. Pulpa entera.



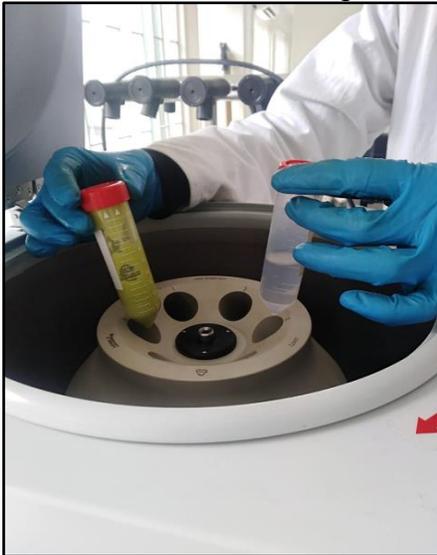
Fuente: elaboración propia

Ilustración 32. Pulpa con Buffer.



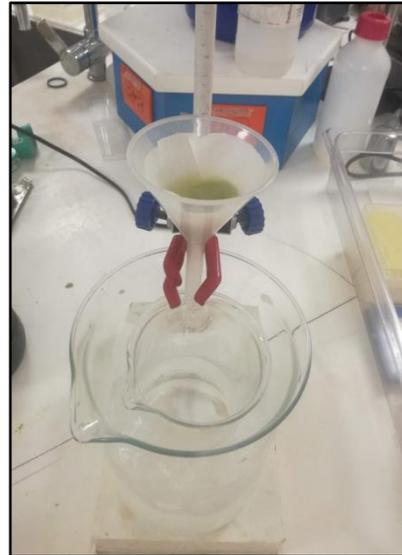
Fuente: elaboración propia

Ilustración 33. Centrifugación.



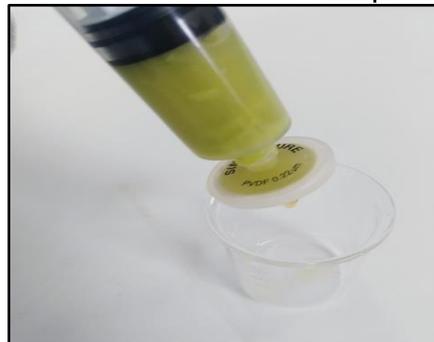
Fuente: elaboración propia.

Ilustración 34. Filtración.



Fuente: elaboración propia.

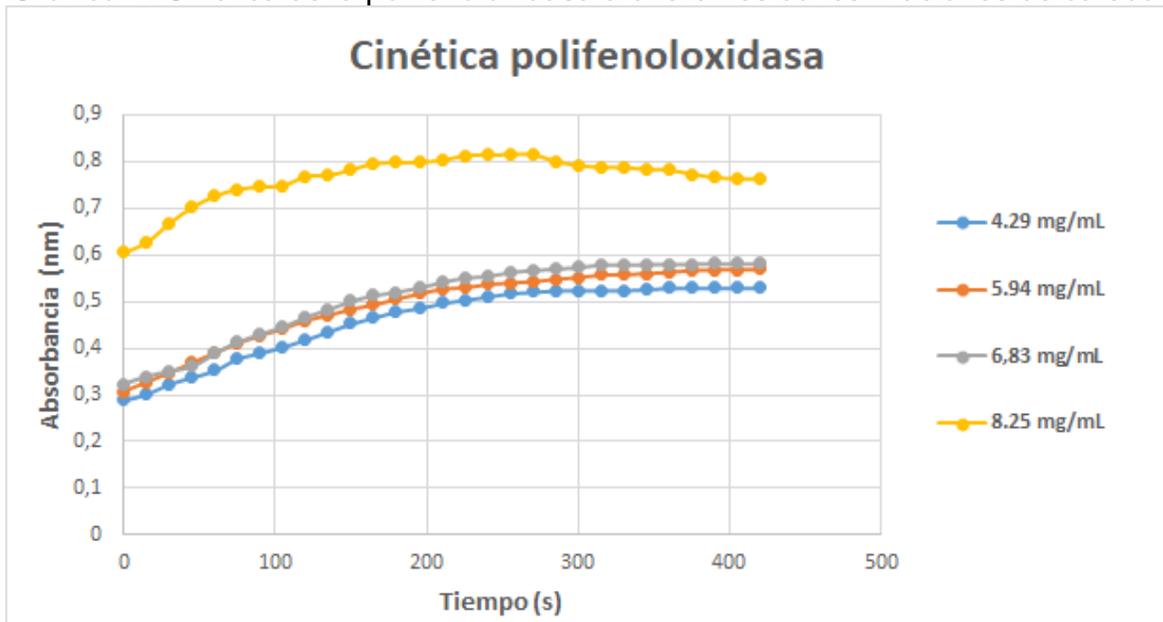
Ilustración 35. Filtro millipore.



Fuente: elaboración propia.

4.2.2 Estudio cinético. Se realizó un estudio espectrofotométrico a una absorbancia de 410 nm siguiendo las concentraciones de catecol con la cantidad de buffer de fosfato, se inicia la reacción añadiendo una cantidad constante de extracto enzimático de 0.5 ml para las concentraciones de catecol de 4.29 mg/ml, 5.28 mg/ml, 6.93 mg/ml y 8.25 mg/l se añadieron consecutivamente una cantidad de Buffer fosfato de 1.2 ml, 0.9 ml, 0.4 ml y de 0 ml para la última concentración. durante el transcurso de la reacción enzimática de la polifenoloxidas, se representa la absorbancia de cada concentración de catecol durante 7 min de reacción, durante 15 segundos en cada medición frente al tiempo de reacción transcurrido, donde relaciona con la ayuda de la cinética de Michaelis-Menten para cada sustrato para trabajar con la mejor actividad enzimática de que represente un incremento de absorbancia significativo.

Gráfica 4. Cinética de la polifenoloxidas a diferentes concentraciones de catecol.



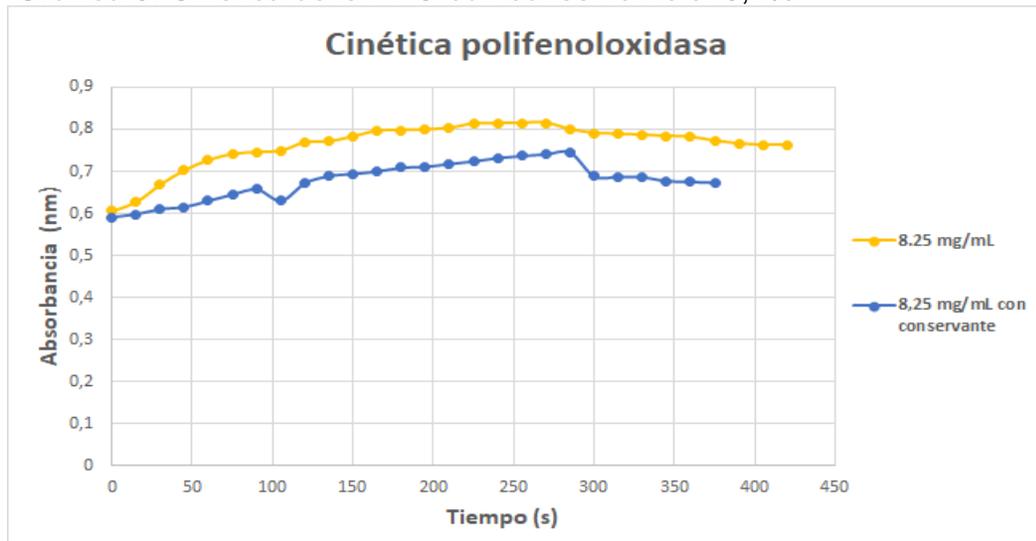
Fuente: elaboración propia.

Con base en la gráfica 5, que representa el cambio de la absorbancia frente al tiempo de reacción transcurrido para la presencia de la enzima polifenoloxidas, se puede observar que la curva con mayor incremento significativo durante el transcurso de la medición fue la que tenía una concentración de catecol de 8.25 mg/ml y una concentración de sustancia bufferada de 0 ml por ende es la curva que se representa con mayor interés para aplicar el conservante natural extraído por el método de lixiviación mediante las concentraciones de 0.1%, 0.3% y 0.5%.

4.2.3 Estudio cinético de la polifenoloxidasasa con conservante. A continuación, se presentan las gráficas de la cinética de la polifenoloxidasasa con la concentración de catecol que obtuvo mayor velocidad de reacción la cual fue de 8,25 mg/mL y dichas condiciones fueron replicadas para una cada una de las concentraciones de conservante.

- **Concentración de conservante al 0,1%**

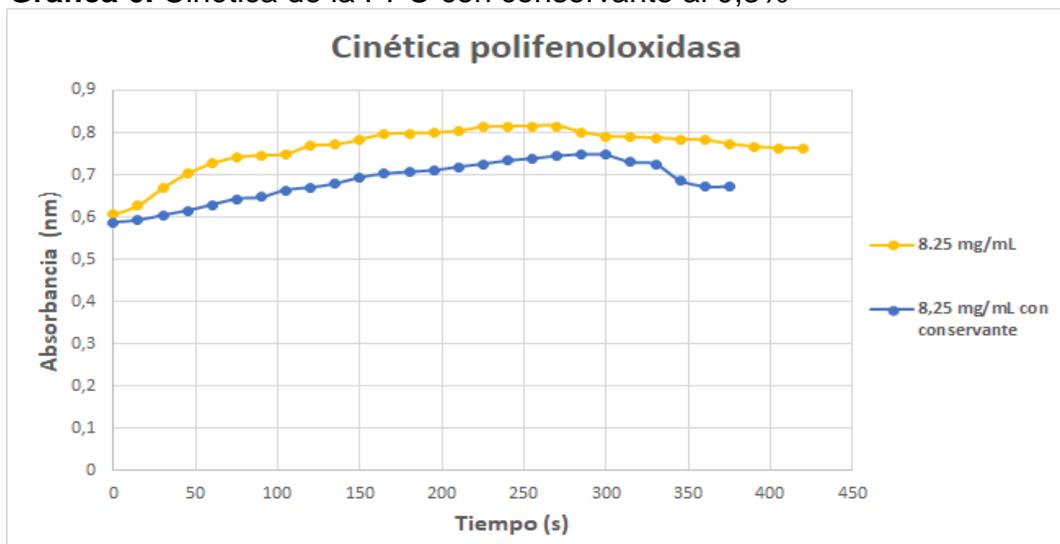
Gráfica 5. Cinética de la PPO con conservante al 0,1%



Fuente: elaboración propia.

- **Concentración del conservante al 0,3%**

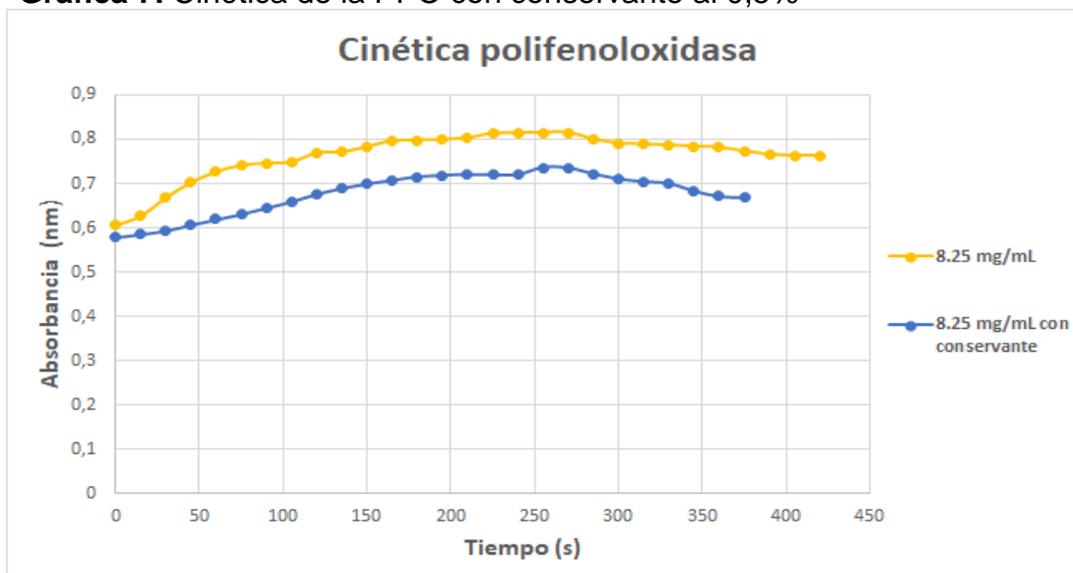
Gráfica 6. Cinética de la PPO con conservante al 0,3%



Fuente: elaboración propia.

- **Concentración del conservante al 0,5%**

Gráfica 7. Cinética de la PPO con conservante al 0,5%



Fuente: elaboración propia

En las gráficas 6,7 y 8, se puede observar como la velocidad de reacción en torno a la absorbancia que presenta el extracto enzimático sin conservante es menor, lo cual da un indicio de que el conservante probablemente actúa como inhibidor, sin embargo, esto se corrobora con el modelo cinético enzimático que se presenta más adelante. Por otra parte, el comportamiento que presentan fue muy similar para las tres diferentes concentraciones de conservante que se evaluaron (0,1%, 0,3%, 0,5%), mostrando un comportamiento diferencial la concentración de 0,5% de conservante que muestra mayor linealidad, lo cual puede ser causal por una mejor técnica en la medición o por una mayor inhibición a esta concentración.

4.2.4 Modelo cinético enzimático Michaelis-Menten. La activación o inhibición de la enzima está controlado por pequeñas variaciones en la concentración de sustratos, inhibidores y efectores en general. De otro modo, la velocidad de una reacción enzimática está definida como las moles de sustrato que varían por minuto, donde se aprecia que estas son velocidades mucho mayores que las catalizadas químicamente.¹³³

Con lo anterior cabe aclarar, que las enzimas con el aumento de la concentración del sustrato, la velocidad de la reacción comienza a decrecer hasta que una cierta concentración de sustrato se alcanza y por encima de ella no se pueden apreciar los cambios significativamente de velocidad, por ende, la velocidad de reacción

¹³³ RESTREPO, Jaime. Op cit., p. 289.

tiende a ser constante¹³⁴ y le es insignificante la cantidad de sustrato que se añada al medio, este efecto puede ser fácilmente explicado debido a la formación de un complejo enzima-sustrato.

4.2.5 Modelo Michaelis-Menten

Normalmente, medimos las velocidades únicamente después de que se haya establecido el estado estacionario, y antes de que [ES] haya cambiado mucho. Podemos expresar entonces la velocidad de la siguiente forma. En el estado estacionario, las velocidades de formación y degradación de ES son iguales. Por consiguiente, $k_1[E][S] = k_1[ES] - k_2[ES]$. Formación a partir de Descomposición en la Descomposición en la enzima y el sustrato enzima y el sustrato enzima y los productos.¹³⁵

$$v = \frac{V[S]}{K_M + [S]}$$

Donde:

- K_M = Constante de Michaelis-Menten.
- V = Velocidad máxima de la reacción.
- $[S]$ = Concentración de sustrato.
- v = Velocidad de reacción observada.

4.2.6 Linealización de Lineweaver-Burk. Es una modificación de la ecuación de Michaelis-Menten con el fin de determinar la K_M , donde la mejor manera es reordenar la ecuación linealizándola, tomando los recíprocos en ambos lados de la ecuación.

$$\frac{1}{v} = \frac{K_M}{V} \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V}$$

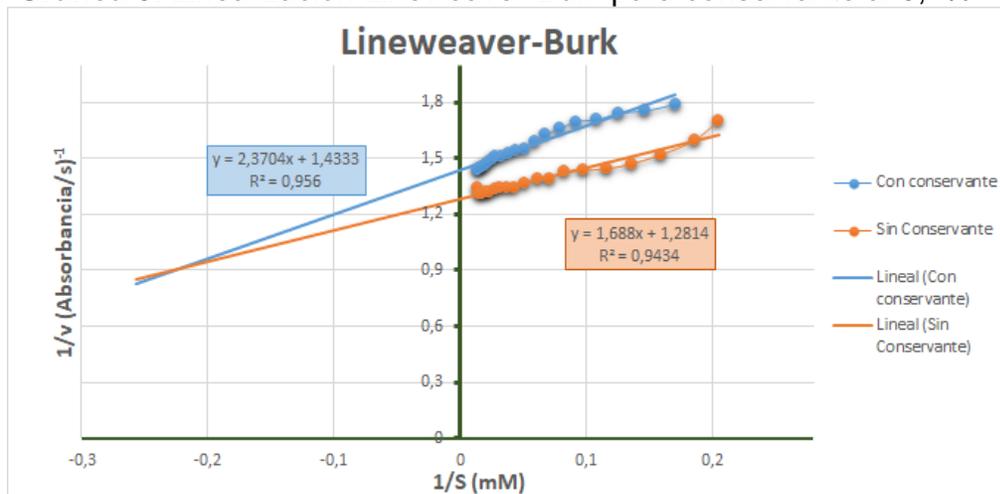
A continuación, se describe el comportamiento de la reacción enzimática cuando es añadido el conservante natural obtenido mediante el proceso de lixiviación a diferentes concentraciones, manteniendo la concentración de sustrato (catecol 8.25 mg/mL) constante, registrando datos de absorbancia a 410 nm. Se realiza esta linealización para obtener las constantes de Michaelis-Menten, junto con la velocidad máxima de reacción, para cada caso. A modo global, la constante K_M que se obtuvo para la cinética sin conservante fue de 1,317309193 mM, registrando una velocidad máxima de 0,780396441 absorbancia/s, la cual fue la referencia en cada uno de los tratamientos.

¹³⁴ RESTREPO, Jaime. Op cit., p. 289.

¹³⁵ MATHEWS, C. K., VAN HOLDEN, K. E. y AHERN, K.G. Bioquímica. 1a. edición. Pearson Educación, S. A., Madrid. 2002. p. 421.

- **Conservante al 0,1%**

Gráfica 8. Linealización Lineweaver-Burk para conservante al 0,1%

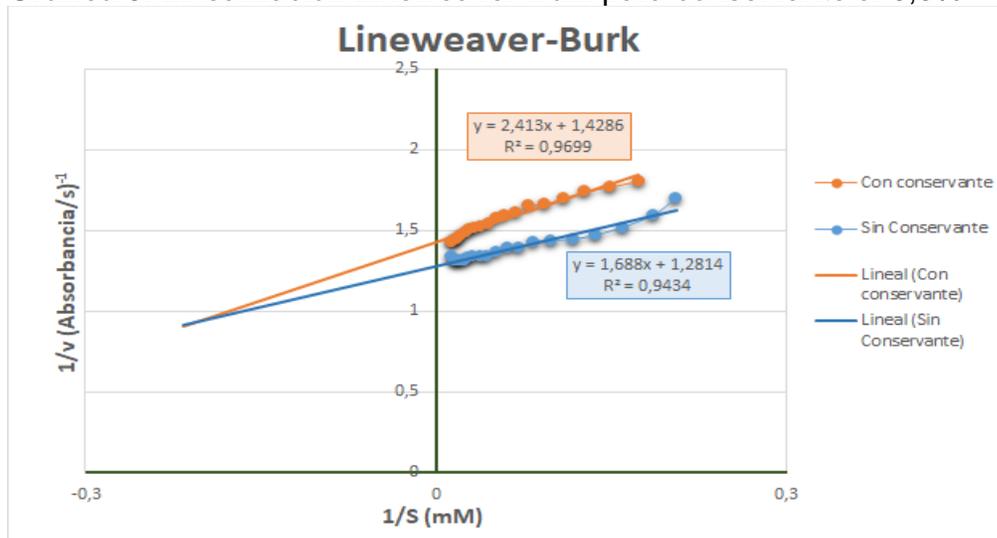


Fuente: elaboración propia.

Al realizar la linealización para la cinética enzimática del conservante al 0,1% se obtuvo una constante de Michaelis-Menten K_M de 1,6538059 mM y una velocidad máxima de 0,697690644 absorbancia/s.

- **Conservante al 0,3%**

Gráfica 9. Linealización Lineweaver-Burk para conservante al 0,3%

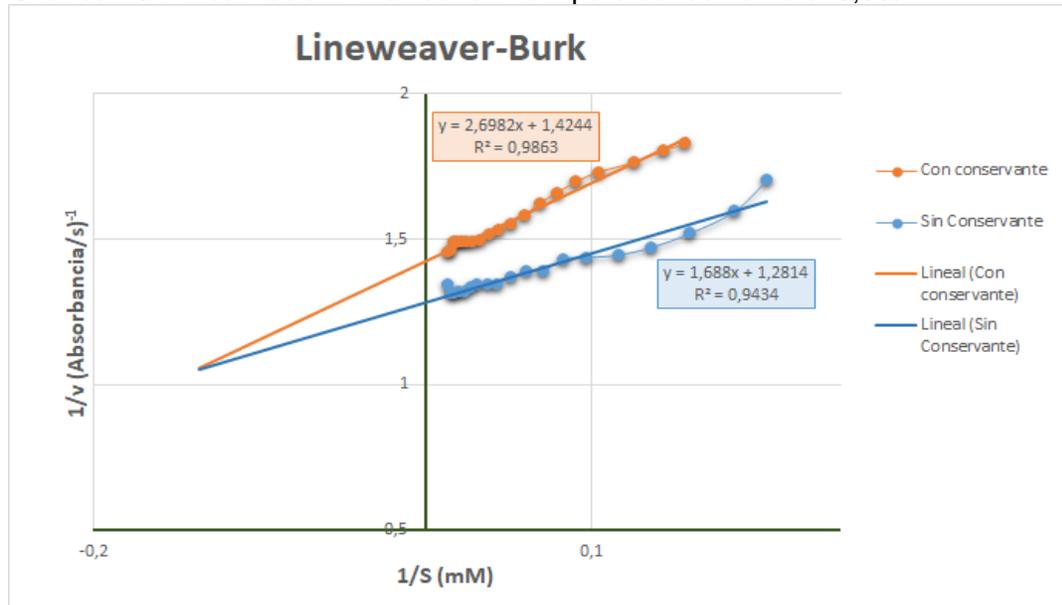


Fuente: elaboración propia.

Al realizar la linealización para la cinética enzimática del conservante al 0,1% se obtuvo una constante de Michaelis-Menten K_M 1,689066 de mM y una velocidad máxima de 0,699986 absorbancia/s.

- **Conservante al 0,5%**

Gráfica 10. Linealización Lineweaver-Burk para conservante al 0,5%



Fuente: elaboración propia.

Al realizar la linealización para la cinética enzimática del conservante al 0,1% se obtuvo una constante de Michaelis-Menten K_M de 1,89427127 mM y una velocidad máxima de 0,70204999 absorbancia/s.

Como se pueden observar en las gráficas 9,10 y 11 el conservante actúa modificando la actividad catalítica, donde esta última depende de las alteraciones conformacionales y estructurales dependiendo la velocidad catalizada controlada por la afinidad de la enzima-sustrato, donde el conservante natural actúa como efector negativo, logrando así una modificación en la afinidad de la enzima por el sustrato como inhibidor ya que disminuye la constante de afinidad.

4.3 DEFINICIONES DE LOS PARÁMETROS SENSORIALES UTILIZADOS EN LA INVESTIGACIÓN Y PARAMETROS FISICOQUIMICOS.

Para la prueba descriptiva cuantitativa, se capacitaron a 20 personas en la captación sensorial de los aguacates durante dos horas por semana en un período de dos semanas, utilizando productos modelo del cultivo del mes de abril y mayo del 2019. Esto fue para caracterizar los parámetros y así dar una descripción detallada de los elementos descriptivos en la pulpa de aguacate, con conservante natural y ácido cítrico, puesto que este último ya se usa a nivel industrial.

Cuadro 9. Definición de parámetros sensoriales.

Prueba organoléptica	Rango de parámetro sensorial
Color	Muy verde a muy clara
Olor	Muy perceptible a nada perceptible
Sabor	Muy agradable a muy desagradable
Textura	Muy consistente a líquida
Aceptabilidad	Muy agradable a muy desagradable.

Fuente: Akua, Amponsaa, formulation and shelf life evaluation of avocado *Persea americana*) fruit spread, nkrumah university, 2012, p.27

4.3.1 Acidez titulable. La acidez es expresada por el ácido predominante en la medición del fruto, para el caso del aguacate se trata del ácido tartárico por lo cual, se calcula por titulación con hidróxido de sodio (NaOH) 0,1 N utilizando fenolftaleína como indicador.

$$Acidez \frac{g}{100 ml} = \frac{100 V1 N_{me}}{V}$$

V = Volumen de la muestra, en mililitros

V1 = Volumen de la solución hidroxido de sodio empleado en la titulación (ml)

N = normalidad de la solución de hidroxido de sodio

me = miliequivalente del ácido en términos del cual se expresa la acidez

Parámetros	
Volumen de la muestra	50 mL
me	0,07505 de ácido tartárico
Normalidad de solución (NaOH)	0,1 N

TA = temperatura ambiente – 20°C

TR = temperatura refrigerada – 10°C

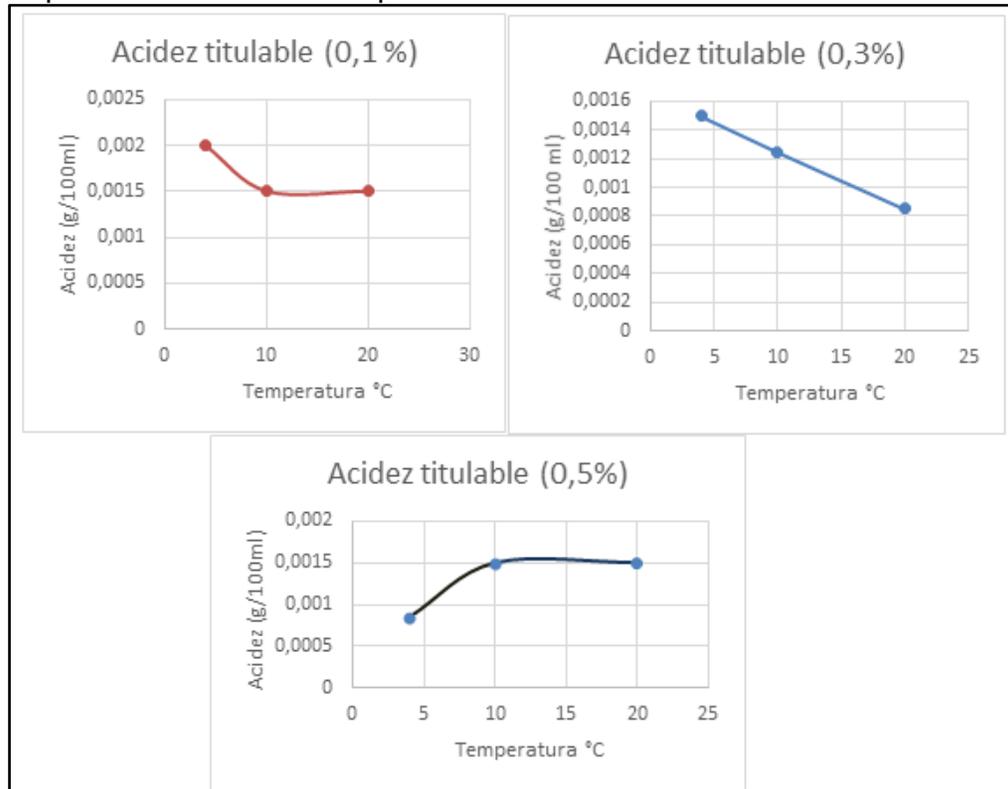
TC = temperatura congelada – 4°C

Tabla 16. Acidez titulable para diferentes concentraciones

Concentración 0%	Concentración 0.1%	Concentración 0.3%	Concentración 0.5%
TA=	TA=0,001501	TA= 0,00085057	TA= 0,001501
0,02501667	g/100ml	g/100ml	g/100ml
g/100ml	TR=0,001501	TR=0,00125083	TR=0,001501
	g/100ml	g/100ml	g/100ml
	Tc=0,00200133	Tc= 0,001501	Tc=0,00085057
	g/100ml	g/100ml	g/100ml

Fuente: elaboración propia

Gráfico 1. Acidez titulable para cada concentración de conservante empleado a diferentes temperaturas.



Fuente: elaboración propia.

Para la evaluación de acidez titulable se tiene en cuenta el comportamiento del pH asociado con el contenido de ácidos orgánicos presentes en el fruto, para nuestro caso tuvimos en cuenta que la maduración del fruto está relacionada con la temperatura, ya que en el periodo de maduración estos tienden a disminuir, debido a esto es que se consumen en los diferentes ciclos metabólicos y, además, muchos actúan como precursores de sustancias volátiles en la maduración.

Respecto al comportamiento que tiene la pulpa con el conservante, se concluye que la adición del conservante a una mayor concentración junto con una temperatura de refrigeración permite una disminución de la acidez, lo cual resulta apropiado como método combinado para la conservación del alimento.

4.3.2 pH. Se entiende que el pH es una medida de la acidez de un producto y esta tiene varios indicadores dependiendo de los alimentos tratados.

“La escala de pH se extiende de 0 a 14 con la fuerza relativa de ácido y alcalina definida por el valor de pH en la escala. Un pH de 7 es neutro, mientras que un pH por encima de 7 es alcalino y por debajo de 7 es ácido. Por lo tanto, el rango de pH

para el crecimiento y la supervivencia microbianos se define por el valor mínimo y máximo con un pH ideal para el crecimiento y la supervivencia óptimos”¹³⁶

- Ácido alto: quiere decir pH < 3.5
- Ácido intermedio: es decir, pH 3.5<=>4.5
- Bajo ácido: es decir, pH > 4.5

Para los extractos con conservante a 0.1%,0.3% y 0.5%, se contempló la mejor temperatura de conservación que fue de 4°C, donde se midió el valor de pH con ayuda de un peachimetro donde las medidas fueron de 5,4 6,5 y 6,3 respectivamente. Tomando como referencia los cálculos de velocidad de reacción de la polifenoloxidasas, usando catecol como sustrato en muestras de aguacate Hass, es muy susceptible al deterioro, por ende, lo apropiado para inhibir la enzima es mantenerse a pH entre 5,5 y 6,8¹³⁷

4.3.3 Análisis organoléptico. Este análisis tiene como finalidad establecer las percepciones que tiene el consumidor hacia el producto elaborado, con tal fin se estableció dos encuestas que informan sobre el consumo que se presenta en una población representativa de 20 personas, las cuales se les indico de forma detallada como presentar las pruebas organolépticas basados en el estudio propuesto con ácido cítrico¹³⁸, por otro lado, se formuló la encuesta basados en la Guía Técnica Colombiana GTC 293:2018¹³⁹, dichas encuestas se encuentran en el Anexo C.

El total de personas encuestadas fueron 20, tomando este referente como considerable, donde el rango de edad se estableció de 22 a 79 años, con una edad promedio de 37,55 años, las cuales consumen aguacate con una frecuencia mayor de una vez por semana y adquieren el producto su mayoría en tiendas.

Por otro lado, se estableció, el promedio de consumo en las categorías de una vez por semana con una cantidad de 1,63 aguacates, una vez cada 15 días con una cantidad de 1,63, de vez en cuando con una cantidad de 1,57 y una vez al mes con una cantidad de 1,45 unidades de aguacate consumidas. Estos resultados se evidencian en el Anexo C.

• Resultados para el tratamiento de 0,1% de conservante a 20 gramos de pulpa con temperatura de 4°C.

Para el tratamiento con conservante al 0,1% con una temperatura de 4°C se establece que el color de la muestra aun es característico, con un sabor que no

¹³⁶ Akua,Amponsaa,formulation and shelf life evaluation of avocado (*persea americana*)fruit spread.Nigeria, nkrumah university,2012,p.20.

¹³⁷ REYES.,Op cit .p. 14

¹³⁸ Ibid., p.11.

¹³⁹ Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación. ICONTEC. Guía Técnica Colombiana. GTC 293.2018

agrada ni desagrada, olor nada perceptible, textura normal, para una aceptabilidad del tratamiento con criterio de no agrada ni desagrada. (Ver. Anexo C).

- **Resultados para el tratamiento de 0,3% de conservante a 20 gramos de pulpa con temperatura de 4°C.**

Para el tratamiento con conservante al 0,3% con una temperatura de 4°C se establece que el color de la muestra aun es ligeramente verde, con un sabor desagradable, olor perceptible, textura normal, para una aceptabilidad del tratamiento con criterio desagradable. (Ver. Anexo C).

- **Resultados para el tratamiento de 0,5% de conservante a 20 gramos de pulpa con temperatura de 4°C.**

Para el tratamiento con conservante al 0,5% con una temperatura de 4°C se establece que el color de la muestra aun es ligeramente verde, con un sabor desagradable, olor perceptible, textura poco líquida, para una aceptabilidad del tratamiento con criterio de desagradable. (Ver. Anexo C).

- **Resultados para el tratamiento de 0,1% de ácido cítrico a 20 gramos de pulpa con temperatura de 4°C.**

Para el tratamiento con ácido cítrico al 0,1% con una temperatura de 4°C se establece que el color de la muestra es característico con un 80%, un sabor agradable, olor nada perceptible, textura entre normal y consistente, logrando así una aceptabilidad del tratamiento con un criterio de agradable. (Ver. Anexo C).

- **Resultados para el tratamiento de 0,3% de ácido cítrico a 20 gramos de pulpa con temperatura de 4°C.**

Para el tratamiento con ácido cítrico al 0,3% con una temperatura de 4°C se evidenció que el color de la muestra es característico con un 55% seguido por un 35% para ligeramente verde y solo un 10% identificó un ligeramente clara, con un sabor que no agrada ni desagrada, olor perceptible, textura normal, para una aceptabilidad del tratamiento con criterio no agrada ni desagrada. (Ver. Anexo C).

- **Resultados para el tratamiento de 0,5% de ácido cítrico a 20 gramos de pulpa con temperatura de 4°C.**

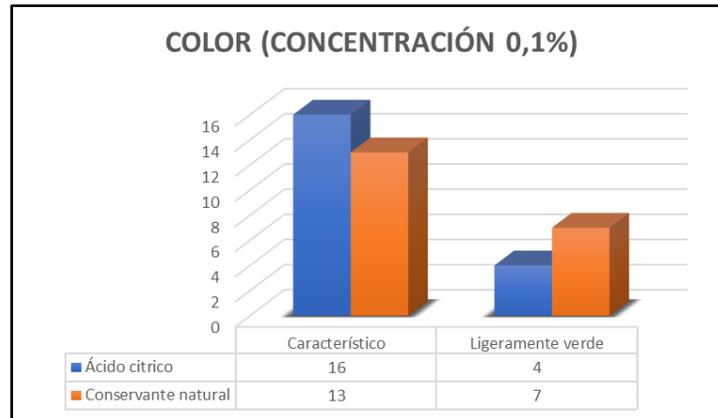
Para el tratamiento con ácido cítrico al 0,5% con una temperatura de 4°C se establece que el color de la muestra aun es ligeramente verde, con un sabor mayormente desagradable, olor perceptible 50% y muy perceptible 50%, textura poco líquida, para una aceptabilidad del tratamiento con criterio de desagradable. (Ver. Anexo C).

Finalmente se hace una comparación de los resultados obtenidos para el tratamiento con ácido cítrico y el conservante natural obtenido; tomando como

referencia el ya realizado por Reyes Luis, titulado como “Uso de ácido cítrico en la elaboración de guacamole y su incidencia en el tiempo de vida útil”¹⁴⁰. Para el presente estudio se trabajó con una temperatura fija a 4°C, puesto que esta temperatura fue la que mejor comportamiento tuvo para el parámetro de acidez titulable, variando la concentración (0,1%, 0,3% y 0,5%) de las dos sustancias de estudio, donde los resultados obtenidos con ácido cítrico se tiene que la aceptabilidad entre los consumidores fue más agradable a 0,1% en una temperatura de 4°C, sin embargo, para Reyes el mejor tratamiento fue con ácido cítrico en una concentración de 0,1% con una temperatura de 17°C¹⁴¹; con relación a al conservante natural extraído de la semilla de aguacate se tiene que la mejor aceptabilidad fue para el mismo tratamiento.

En las gráficas se resume el resultado por atributos y concentraciones.

Gráfica 11. Atributo color, concentración 0,1% de conservante natural-ácido cítrico

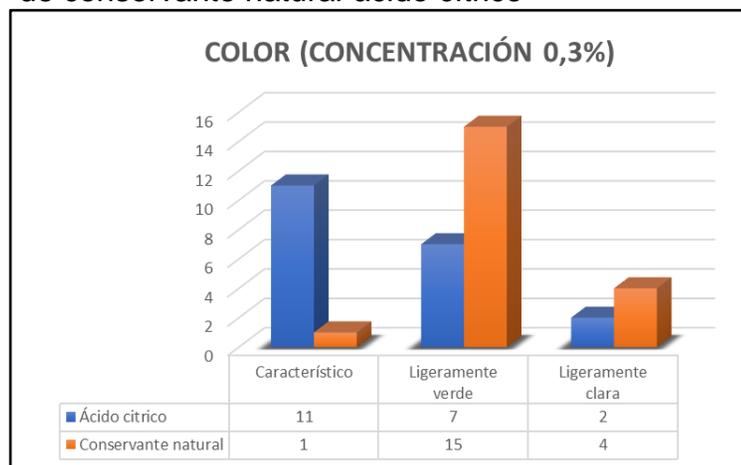


Fuente: elaboración propia.

¹⁴⁰ REYES., Op cit.p. 15

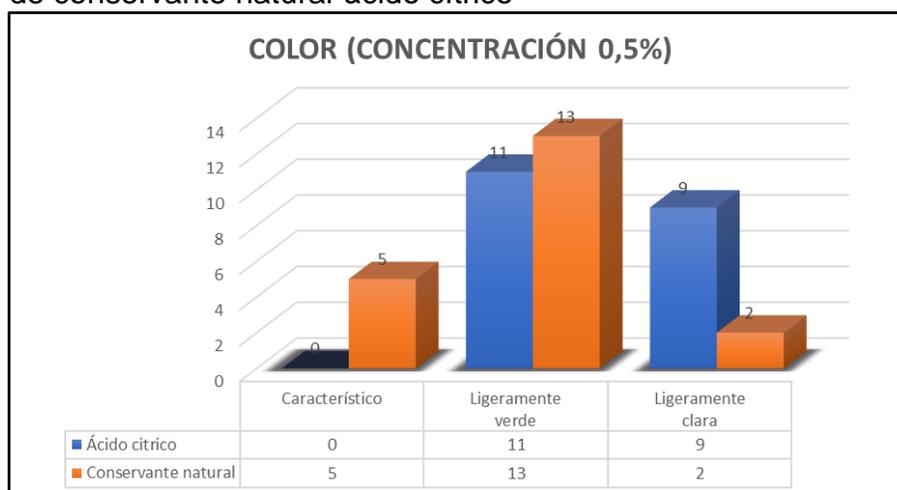
¹⁴¹ Ibid., p.17

Gráfica 12. Atributo color, concentración 0,3% de conservante natural-ácido cítrico



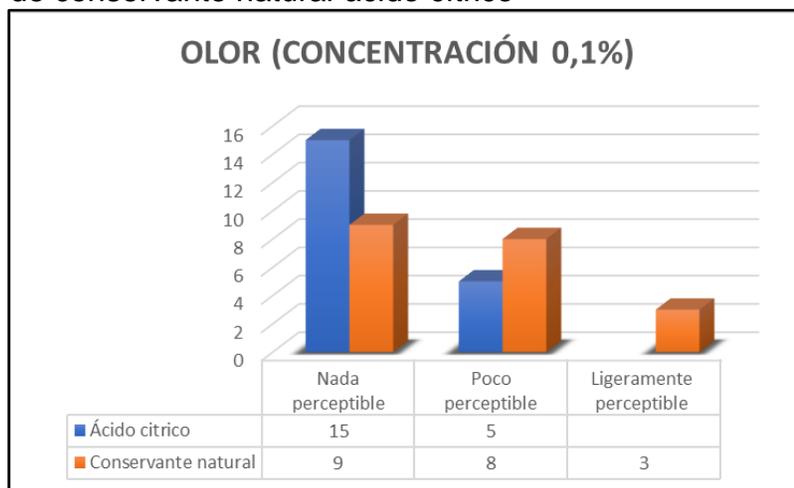
Fuente: elaboración propia.

Gráfica 13. Atributo color, concentración 0,5% de conservante natural-ácido cítrico



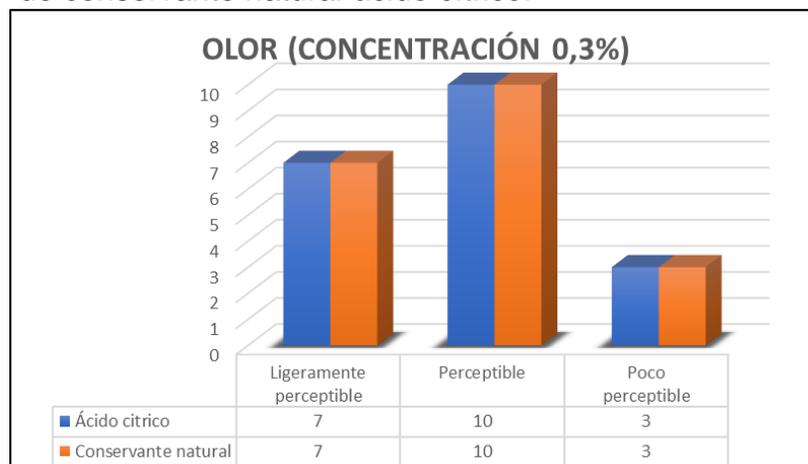
Fuente: elaboración propia.

Gráfica 14. Atributo olor, concentración 0,1% de conservante natural-ácido cítrico



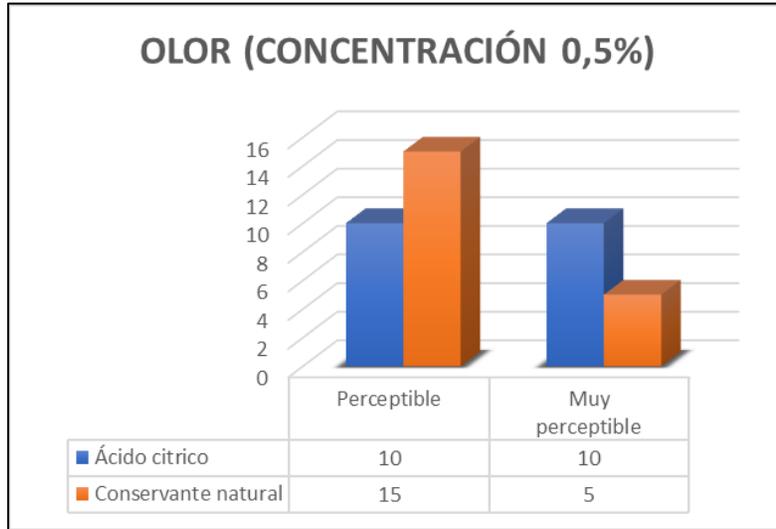
Fuente: elaboración propia.

Gráfica 15. Atributo olor, concentración 0,3% de conservante natural-ácido cítrico.



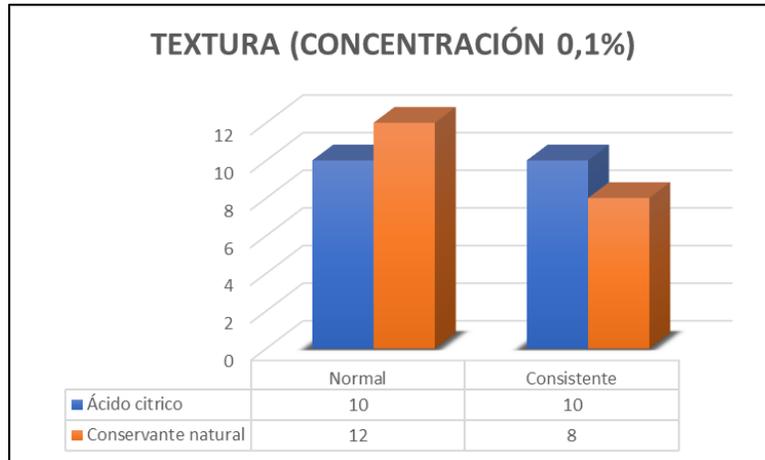
Fuente: elaboración propia.

Gráfica 16. Atributo olor, concentración 0,5% de conservante natural-ácido cítrico



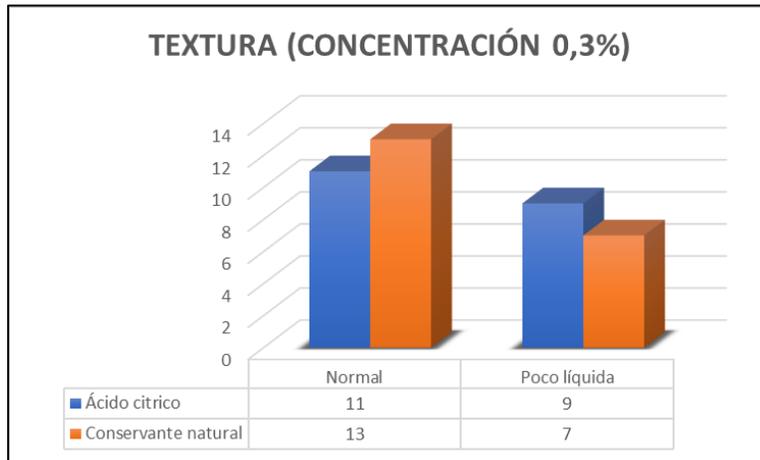
Fuente: elaboración propia.

Gráfica 17. Atributo textura, concentración 0,1% de conservante natural-ácido cítrico



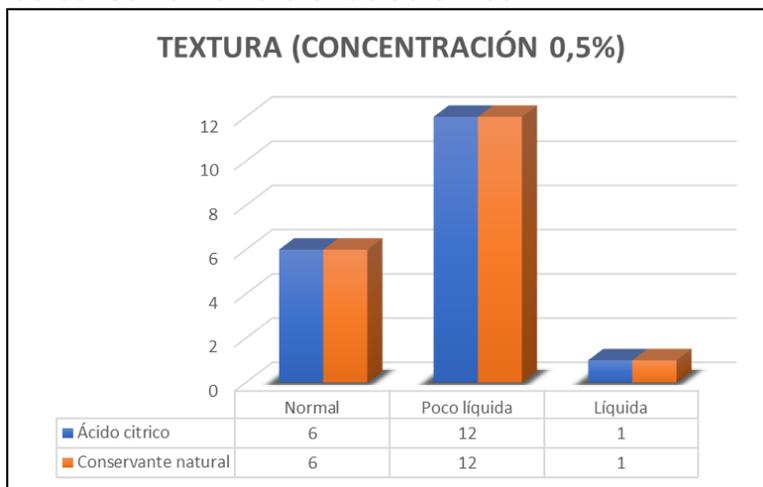
Fuente: elaboración propia.

Gráfica 18. Atributo textura, concentración 0,3% de conservante natural-ácido cítrico



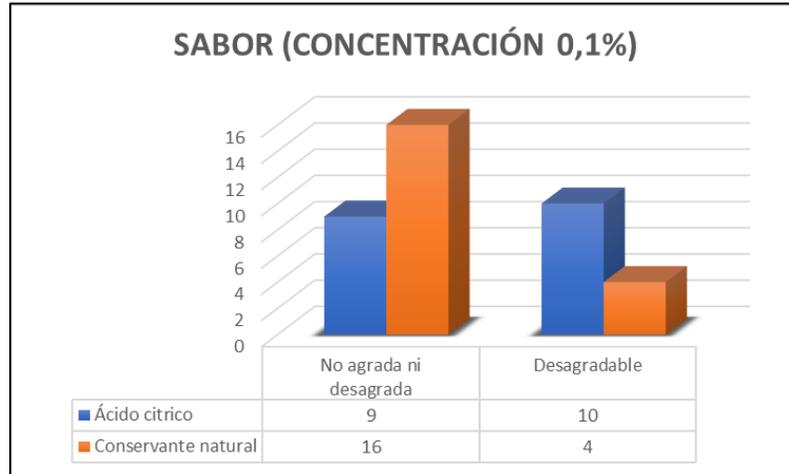
Fuente: elaboración propia.

Gráfica 19. Atributo textura, concentración 0,5% de conservante natural-ácido cítrico



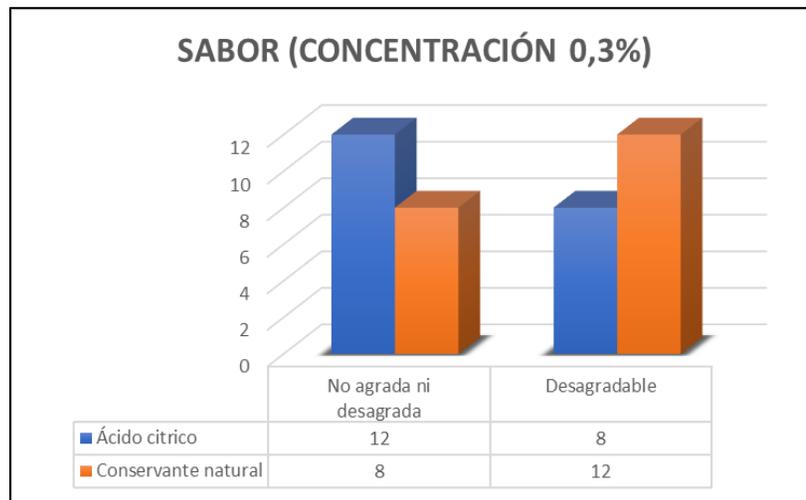
Fuente: elaboración propia.

Gráfica 20. Atributo sabor, concentración 0,1% de conservante natural-ácido cítrico



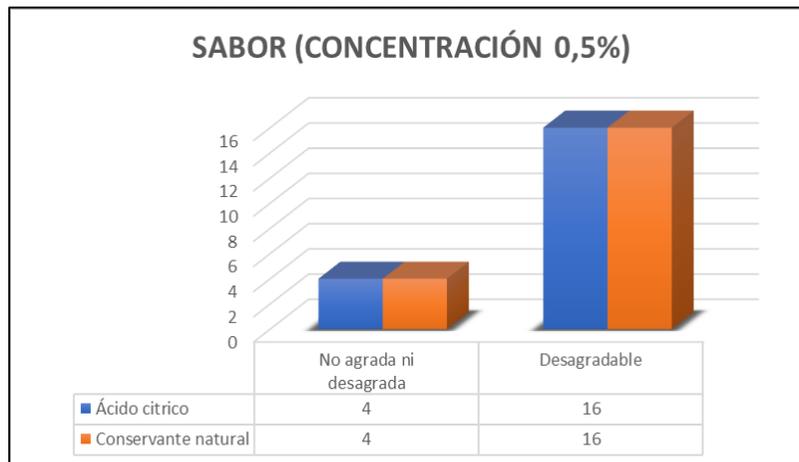
Fuente: elaboración propia.

Gráfica 21. Atributo sabor, concentración 0,3% de conservante natural-ácido cítrico



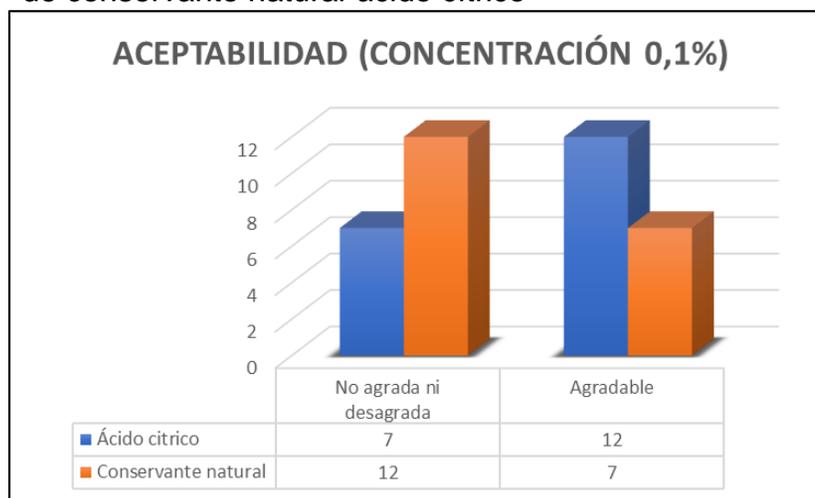
Fuente: elaboración propia.

Gráfica 22. Atributo sabor, concentración 0,5% de conservante natural-ácido cítrico



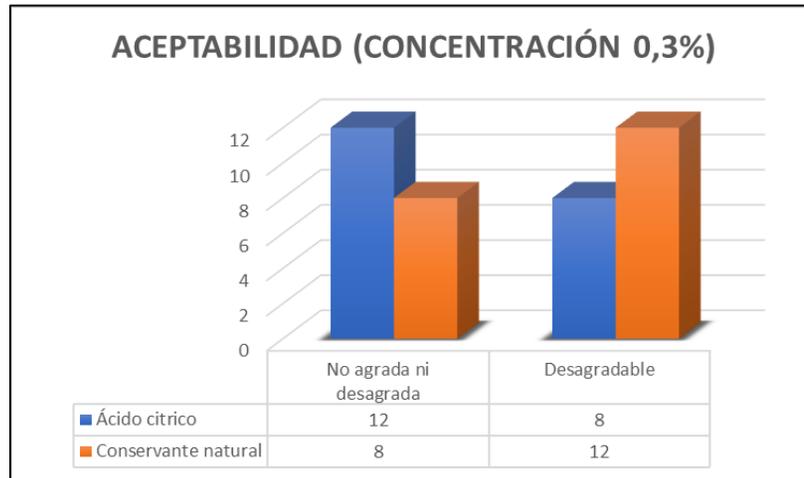
Fuente: elaboración propia.

Gráfica 23. Aceptabilidad, concentración 0,1% de conservante natural-ácido cítrico



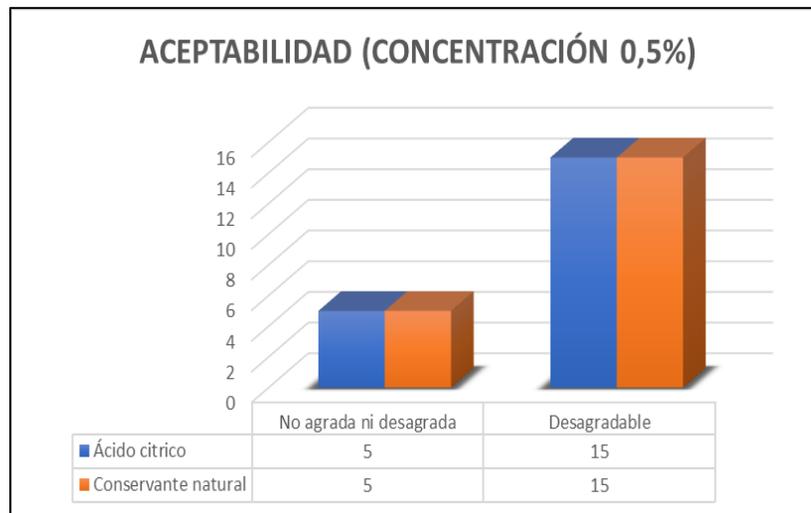
Fuente: elaboración propia.

Gráfica 24. Aceptabilidad, concentración 0,3% de conservante natural-ácido cítrico



Fuente: elaboración propia.

Gráfica 25. Aceptabilidad, concentración 0,5% de conservante natural-ácido cítrico



Fuente: elaboración propia.

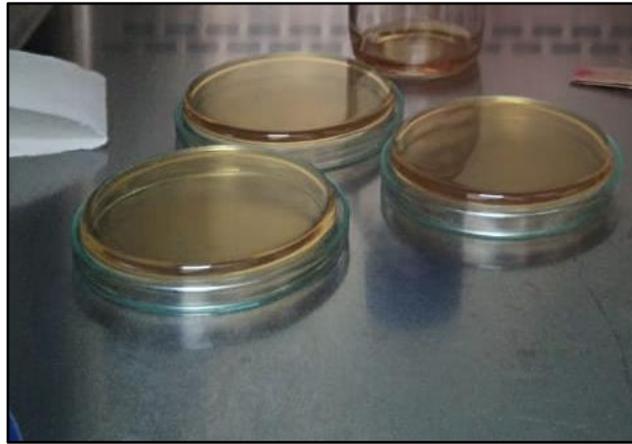
4.4 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

Este análisis se realizó con la finalidad de establecer la susceptibilidad que tiene la bacteria *Escherichia coli* al conservante natural obtenido de la semilla de aguacate variedad Hass, lo cual es más conocido como un antibiograma, este se usa comúnmente en laboratorios clínicos para determinar la viabilidad de instaurar un tratamiento antibiótico de forma acertada al paciente, sin embargo, con algunas modificaciones se puede replicar para alimentos, como se planteó en este proyecto.

Para la realización de este proceso se contó con una gestora de Tecnoparque SENA especializada en el área de microbiología, puesto que los alcances de un ingeniero químico en el área son someros.

4.4.1 Preparación del medio de cultivo de Agar Mueller- Hinton. Lo primero que se preparó fue el medio de cultivo en agar Mueller Hinton, de acuerdo a las instrucciones de la empresa que lo produjo, posteriormente se ajustó el pH en un rango de 7,2 – 7,4 con solución de hidróxido de sodio (NaOH) al 0,1 N, se esterilizó en autoclave a una temperatura de 121°C por 15 minutos, se mantuvo en baño maría hasta una temperatura de 48°C y finalmente, se distribuyó uniformemente en cajas petri estériles¹⁴².

Ilustración 36. Medio de cultivo



Fuente: elaboración propia.

4.4.2 Inóculo. Se seleccionó de 4 a 5 colonias de la bacteria *E-coli* de un cultivo puro (Ver Anexo C), transfiriéndolas con asa bacteriológica a un tubo que contenía 5 mL de caldo estéril de tripticasa de soya, posteriormente se incubó a 35°C durante 6 horas, verificando el crecimiento moderado y por último, el cultivo se diluyó con caldo estéril hasta que alcanzó una turbidez equivalente a 0,5 de la escala de McFarland, correspondientes a 10^8 microorganismos viables por mililitro (mL).

¹⁴² BERNAL, Maye y GUZMAN, Miguel. El antibiograma de discos. Técnica de Kirby-Bauer. Biomédica, Vol. 4, No. 3 y 4 – 1984.

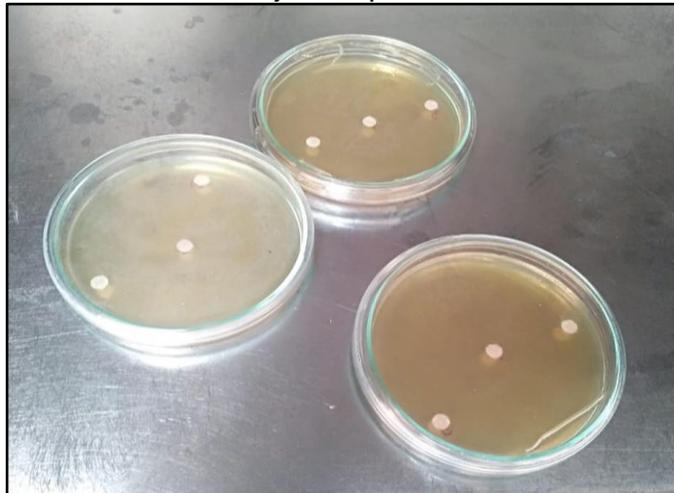
Ilustración 37. Bacteria *E-coli*.



Fuente: elaboración propia.

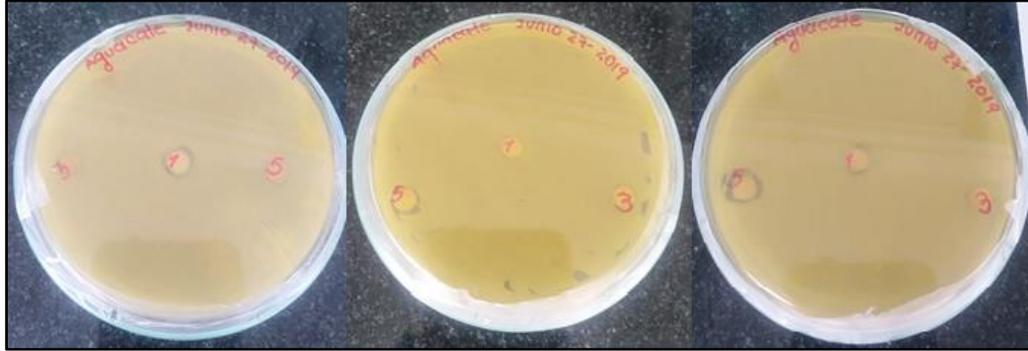
4.4.3 Siembra de la muestra. Se sumergió un aplicador de algodón estéril en el inóculo, se sembró uniformemente en 3 (tres) direcciones sobre la superficie del medio de cultivo, se secó durante 10 minutos manteniendo la caja cerrada, posteriormente se colocaron los sensidiscos, los cuales se elaboraron en papel filtro, sumergidos a las tres concentraciones de conservantes (0,1%, 0,3% y 0,5%) que se estudiaron en este proyecto, con ayuda de las pinzas estériles presionándolos, de forma tal que se asegurara un contacto uniforme. Una vez realizado todo esto, se incubaron a 35°C y se leyeron las cajas después de 24 horas de incubación.

Ilustración 38. Cajas de petri antes de incubar



Fuente: elaboración propia.

Ilustración 39. Cajas de petri después de incubar durante 24 horas.



Fuente: elaboración propia.

Las concentraciones se establecieron en números de 1 a 5, donde 1 representa la concentración de conservante natural al 0,1%, 3 la concentración al 0,3% y 5 la del 0,5%.

Lo que finalmente se obtuvo fue halos de inhibición más representativos para la concentración de 0,5% de conservante natural. Sin embargo, el criterio a seguir, internacionalmente reconocido, es:

- Sensible (S) si el diámetro del halo es mayor de 15 mm
- Resistente (R) si el diámetro del halo es menor de 13 mm
- Intermedio (R/S) si el diámetro del halo está comprendido entre 13 y 15 mm¹⁴³

Cuantitativamente se estableció que la concentración del 0,5% de conservante natural es resistente (R) ya que el diámetro promedio fue de 9,6 mm.

¹⁴³ PICAZO Juan. Métodos básicos para el estudio de la sensibilidad de los antimicrobianos. Procedimientos en microbiología clínica. [en línea] En: Procedimientos en microbiología clínica. [Consultado 23 junio de 2019]. Disponible en Internet: <https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia11.pdf>

5. FACTIBILIDAD FINANCIERA DEL PROCESO DE OBTENCIÓN DEL ANTIOXIDANTE PARTIENDO DE LOS RESIDUOS DE SEMILLA DE AGUACATE VARIEDAD HASS

Al terminar todas las pruebas de desempeño del conservante y a su vez determinado el método de extracción evaluado en el proyecto, es preciso determinar los requerimientos técnicos para escalar el proceso de extracción del conservante natural por lixiviación para una cantidad específica de materia.

Partiendo del hecho que se trabaja con residuos de la empresa productos del Campo San Gregorio, la cual cuenta con una cantidad de semilla de 53 toneladas mensuales, se dispone para el proceso entonces de 301 kg por hora para ser procesados en la planta. Con base a este valor se desarrollarán todos los balances de materia para el proceso teniendo en cuenta que los equipos.

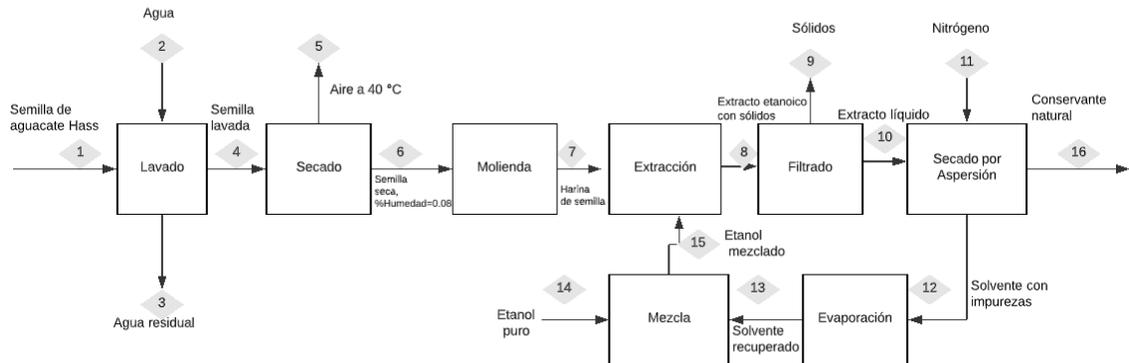
Es necesario establecer los equipos principales que serán utilizados en el proceso y posterior a ello determinar la dimensión de cada uno de ellos para estimar los costos referentes al proyecto.

- Tanque de lavado
- Secador
- Intercambiador de calor
- Molino de muelas
- Molino de bolas
- Tanque extractor
- Filtro de prensa
- Secador por pulverización (Spray drying)
- Evaporador
- Tanque de almacenamiento
- Tanque cerrado

5.1 DIAGRAMA DE PROCESO PARA LA EXTRACCIÓN DEL CONSERVANTE NATURAL

Para el proceso de elaboración del conservante natural se tiene en cuenta una serie de etapas las cuales reúnen operaciones unitarias de los procesos químicos en los cuales la materia sufre de cambios físicos y finalmente existe un proceso de extracción de los compuestos bioactivos de interés para la elaboración del conservante. Por ello un diagrama de proceso, nos lleva a la representación gráfica de las corrientes que intervienen en las diferentes unidades de proceso, como se muestra en la gráfica 10 y se describen las corrientes en el cuadro 8, para una mayor comprensión del proceso, basados en la extracción por lixiviación.

Ilustración 40. Diagrama de bloques del proceso de obtención del conservante.



Fuente: elaboración propia.

Cuadro 10. Corrientes de proceso de obtención del conservante.

Corriente	Nombre
M1	Semilla de aguacate Hass
M2	Agua
M3	Agua residual
M4	Semilla lavada
M5	Aire a 40 °C
M6	Semilla seca, %Humedad=0.08
M7	Harina de semilla
M8	Extracto etanoico con sólidos
M9	Sólidos
M10	Extracto líquido
M11	Nitrógeno
M12	Solvente con impurezas
M13	Solvente recuperado
M14	Etanol puro
M15	Etanol mezclado
M16	Conservante natural

Fuente: elaboración propia

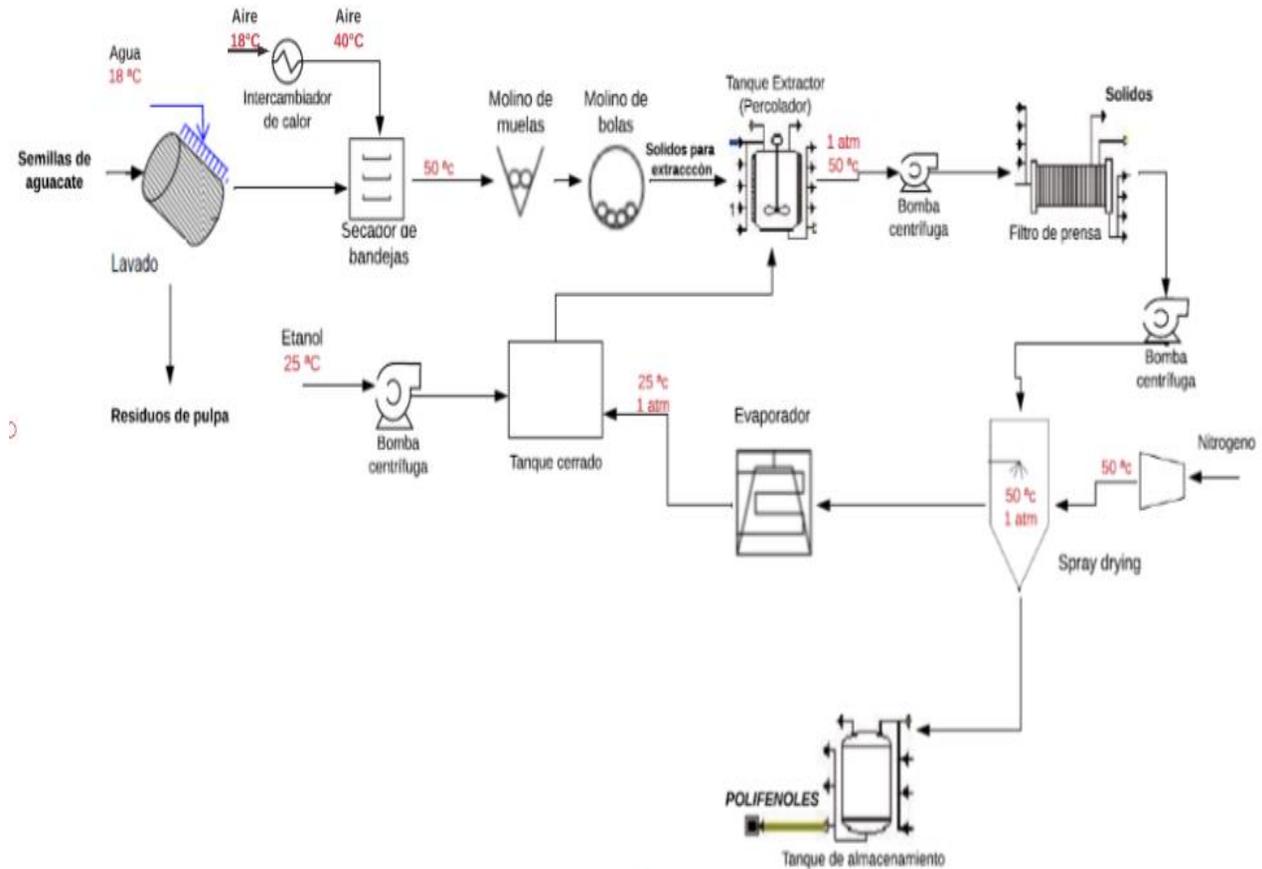
5.1.1 Diagrama PFD (Process Flow Diagram). Los diagramas de flujo de proceso (PFD) son una representación esquemática del proceso, proporciona datos básicos y describe las condiciones de operación normal y su control básico.¹⁴⁴ Estos diagramas proporcionan una información clara, ordenada y concisa de todos los pasos que componen los distintos procesos industriales.¹⁴⁵

¹⁴⁴ AMERICAN NATIONAL STANDARD. Instrumentation Symbols and Identification. ANSI/ISA-5.1-2009.

¹⁴⁵ NIROSA. Diagramas de flujo de proceso (PFD) y P&ID. Oct. [Consultado el 9 de enero del 2019]. Disponible en: <http://nirosa.es/servicio/diagramas-de-flujo-de-proceso-pfd/>

A continuación, se presenta el diagrama PFD del proceso de extracción de conservante natural por el método de lixiviación.

Ilustración 41. Diagrama PFD (Process Flow Diagram) de obtención de conservante.



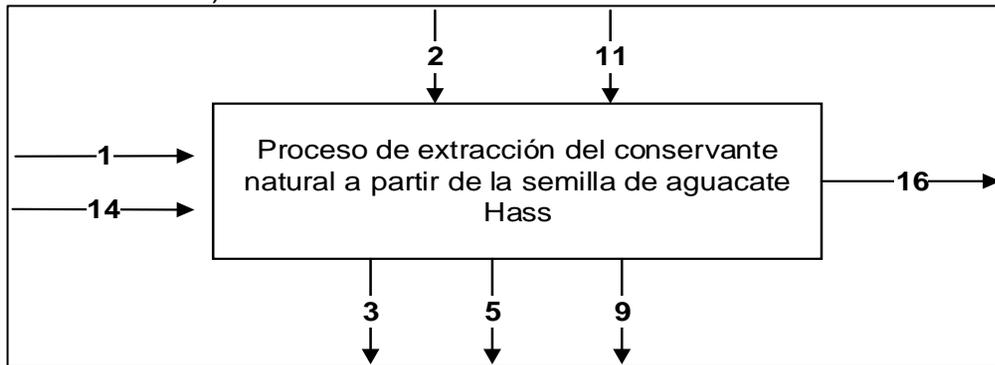
Fuente: elaboración propia

5.2 BALANCES PRELIMINARES DE MATERIA

Como se mencionó al inicio del capítulo, se tendrá en cuenta para los balances de materia una cantidad total de entrada del proceso de 53 toneladas mensuales, con base a esta información se desarrollará los balances de materia correspondientes al proceso. Se realiza un estudio preliminar en cuanto a la dimensión de equipos.

5.2.1 Balance global de materia. Para el balance global se toma el diagrama presentado en la ilustración 42 donde se establece las entradas y salidas del proceso en general.

Ilustración 42. Diagrama global del proceso de extracción del conservante natural a partir de la semilla de aguacate Hass (*Persea americana mil.*)



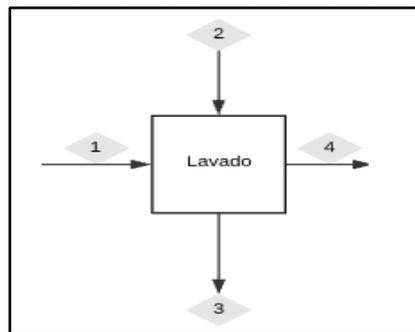
Fuente: elaboración propia.

$$M1 + M2 + M11 + M14 = M3 + M5 + M9 + M16$$

(Ecuación1)

5.2.2 Balance de materia para el proceso de lavado.

Ilustración 43. Unidad de lavado



Fuente: elaboración propia.

Para la siguiente ecuación se puede observar el balance de masa para la ilustración anterior:

$$M1 + M2 = M3 + M4 \quad \text{(Ecuación 2)}$$

La cantidad de semillas de aguacate que se van a procesar son 53 toneladas al mes, los días que se contemplan para realizar el proceso al mes es de 22 días, teniendo en cuenta esto y según las capacidades máximas de los equipos que se requieren, los flujos de ingreso de semillas serán de 301 kg/h al día. En esta etapa del proceso, se debe establecer la cantidad de agua y la capacidad de la unidad de lavado; esta unidad trabajara con un equipo con una capacidad de 300 y 3000kg/h el cual se ajusta a nuestras necesidades y tiene un consumo de agua 300 L, es decir M2 será de 300L/día o 37,5 L/h.

Para M2 se establece para uniformidad en los datos.

$$\rho = \frac{m}{v} \quad \text{(Ecuación 3)}$$

$$m = \rho * v = \frac{1kg}{l} * 300L = 300kg \rightarrow \text{trabajo diario } 8h \rightarrow \frac{37,5kg}{h} \quad \text{(Ecuación 4)}$$

ρ = densidad del agua con un valor de 1 kg/L

m = masa del agua a obtener

V = volumen del agua en este caso 662,5 L

Finalmente, para obtener el valor de la corriente M3 se tiene en cuenta que las cantidades de agua y semilla de aguacate que entran en la lavadora serán iguales a las cantidades de agua y aguacate que salen de la lavadora. Reemplazando en la ecuación se obtiene:

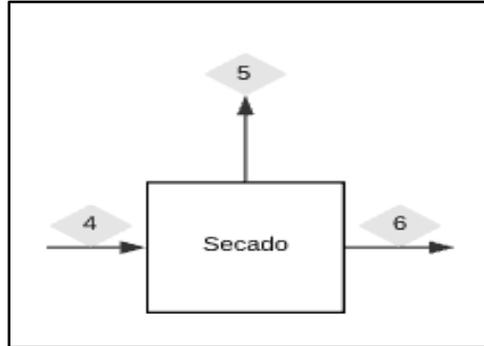
$$338.5 \frac{kg}{h} = M3 + M4 \quad \text{(Ecuación 5)}$$

Puesto que, para el proceso de lavado, las semillas que ingresan solo contienen una mínima cantidad de pulpa adherida, se asume que no hay pérdidas significativas de peso, por lo cual:

$$M1 = M4 \quad \text{(Ecuación 6)}$$

5.2.3 Balance de materia para el proceso de secado.

Ilustración 44. Unidad de secado



Fuente: elaboración propia.

Para la siguiente ecuación se puede observar el balance de masa para la ilustración anterior:

$$M4 = M5 + M6$$

(Ecuación 7)

En esta unidad de proceso se tiene en cuenta el contenido de humedad y material volátil de la semilla de aguacate Hass que se estableció en el numeral 2.1.5 la cual obtuvo un porcentaje de humedad de 56,32%. Al final del proceso de deshidratación es necesario que la semilla tenga un porcentaje de humedad de 8,34% esta es la humedad final a la que se quiere llegar para ser procesada óptimamente.

La corriente M6 es la que indicará esta pérdida de humedad, ya que el proceso de deshidratado es un proceso en el cual la semilla pierde peso en forma de vapor de agua.¹⁴⁶

$$\text{Masas de producto seco} = \frac{100 - H_{\text{inicial}}}{100 - H_{\text{requerida}}} * \text{Masa que ingresa al secador} \quad (\text{Ecuación 8})$$

$$\text{Masas de producto seco} = \frac{100 - 56,32}{100 - 8,34} * \frac{301 \text{ kg}}{h} = 143,44 \frac{\text{kg}}{h} \quad (\text{Ecuación 9})$$

Finalmente se obtiene que la corriente de salida de vapor se estima así:

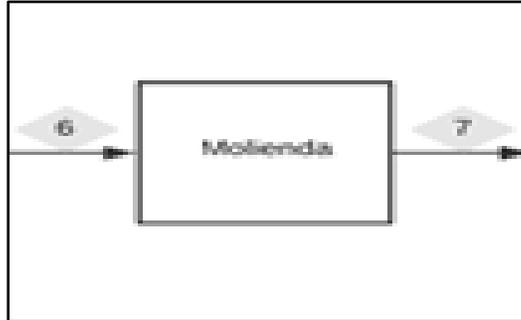
$$301 \frac{\text{kg}}{h} = M5 + 143,44 \frac{\text{kg}}{h} \quad (\text{Ecuación 10})$$

$$M5 = 157,56 \frac{\text{kg}}{h} \text{ de vapor} \quad (\text{Ecuación 11})$$

¹⁴⁶ MELO, Felipe. Op cit., p 101.

5.2.4 Balance de materia para el proceso de molienda.

Ilustración 45. Unidad de molienda

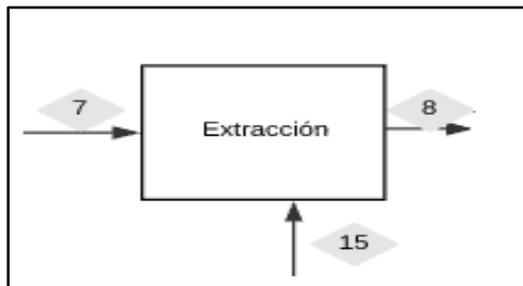


Fuente: elaboración propia.

Como se describe en la sección 3.2.2 se establece las pérdidas que presenta la semilla de aguacate al someterse a este proceso. Se conoce que para este caso ingresa la corriente $M_6 = 143,44$ kg/h y el porcentaje de pérdida que se obtuvo fue de 18,8156%, por lo tanto, se tiene que la corriente $M_7 = 116,45$ kg/h.

5.2.5 Balance de materia para el proceso de extracción.

Ilustración 46. Unidad de extracción



Fuente: elaboración propia.

En la extracción se debe tener en cuenta la corriente de ingreso de etanol, como este se encuentra en estado líquido se debe relacionar los litros requeridos los cuales son 158,66 L/h, para estimar esto como corriente en kilogramo por hora, recurrimos a la densidad de este a una temperatura de 20°C aproximadamente una temperatura ambiente, la cual es de densidad $\rho_{\text{EtOH}/20^\circ\text{C}} = 0,9982$ g/mL lo que obtiene al multiplicarse por el volumen requerido finalmente es la corriente $M_{15} = 158,65$ kg/h.

Para obtener el valor de la corriente de salida de la unidad de extracción se tiene que:

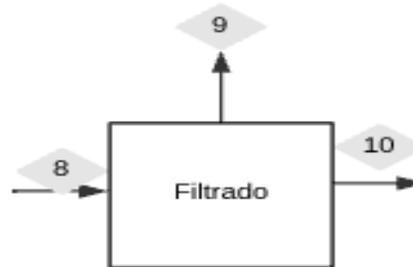
$$M_7 + M_{15} = M_8$$

(Ecuación 12)

Por lo anterior $M_8 = 275,1 \text{ kg/h}$; sin embargo, cabe aclarar que en la sección 3.4.4 se estableció que este proceso tiene un rendimiento del 76,205% por lo que la corriente de salida corregida es de $209,63 \text{ kg/h}$.

5.2.6 Balance de materia en el proceso de filtrado.

Ilustración 47. Unidad de filtrado.



Fuente: elaboración propia.

Esta unidad pretende separar la fase líquida de la sólida que se obtiene en la extracción, de forma que se pueda obtener el conservante natural de forma líquida, por ende, la siguiente expresión es la que se tiene en este proceso.

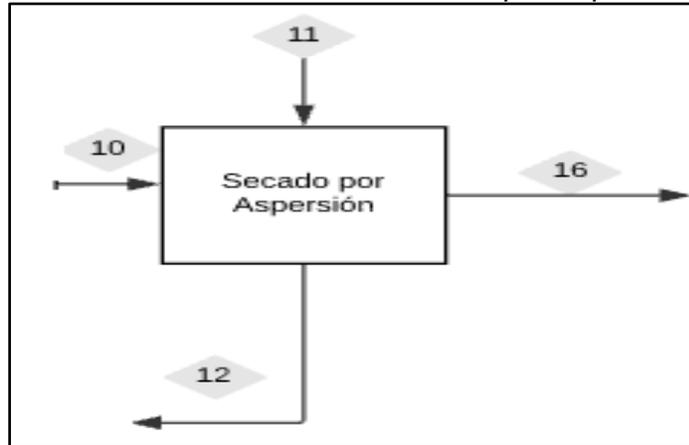
$$M_8 = M_9 + M_{10} \quad \text{(Ecuación 13)}$$

Para la separación se espera que el sólido sea removido en su totalidad, por tanto, se tiene que $M_7 = M_9$. Por último, tenemos que la corriente de salida de la unidad de filtrado M_{10} será:

$$M_{10} = 275,1 \frac{\text{kg}}{\text{h}} - 116,45 \frac{\text{kg}}{\text{h}} = 158,65 \frac{\text{kg}}{\text{h}} \quad \text{(Ecuación 14)}$$

5.2.7 Balance de materia en el proceso de secado por aspersión.

Ilustración 48. Unidad de secado por aspersión



Fuente: elaboración propia.

Ingresa dos corrientes a la unidad de secado M10, M12 y dos de salida M12 y M16, esta última se determina por el rendimiento final que tiene el equipo de secado por aspersión el cual es del 98% aproximadamente, por lo cual $M16 = 155,48 \text{ kg/h}$ y el ingreso de nitrógeno al secado por aspersión, M11 según especificaciones técnicas es de 80 kg/h .

Por otra parte, la ecuación de balance de la unidad de secado como se muestra a continuación:

$$M10 + M11 = M12 + M16$$

(Ecuación 15)

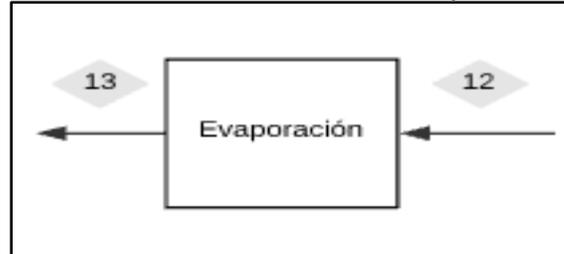
Lo anterior se establece, para determinar la cantidad de etanol con algunas impurezas que sale por la corriente M12 de la unidad de secado por aspersión, donde:

$$M12 = \left(158,65 \frac{\text{kg}}{\text{h}} + 80 \frac{\text{kg}}{\text{h}} \right) - 155,48 \frac{\text{kg}}{\text{h}} = 83,17 \frac{\text{kg}}{\text{h}}$$

(Ecuación 16)

5.2.8 Balance de materia para el proceso de evaporación. En esta etapa se realiza la recuperación del solvente para recircular a la unidad de extracción.

Ilustración 49. Unidad de evaporación

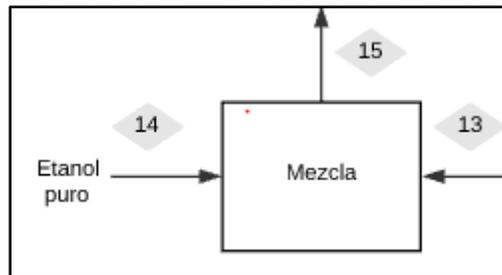


Fuente: elaboración propia.

La unidad recupera el 7,001% de etanol total de la corriente M12, por lo que finalmente la corriente M13 será de 5,82 kg/h.

5.2.9 Balance de materia para el proceso de mezcla. En este proceso se reúne el etanol recuperado del proceso, correspondiente a la corriente M13 junto con etanol puro provenientes de M14, para salir como corriente M15 al proceso de extracción.

Ilustración 50. Unidad de mezcla.



Fuente: elaboración propia.

$$M13 + M14 = M15 \quad \text{(Ecuación 17)}$$

$$M14 = 158,65 \frac{kg}{h} - 5,82 \frac{kg}{h} = 152,83 \frac{kg}{h} \quad \text{(Ecuación 18)}$$

A continuación, se muestra en la tabla un resumen de todas las corrientes con sus respectivos valores, obtenidas para el proceso de extracción de conservante natural a partir de la semilla de aguacate Hass, por el método de lixiviación.

Tabla 17. Corrientes balance de materia

Corriente	Nombre	Valor
M1	Semilla de aguacate Hass	301 kg/h
M2	Agua	37,5 kg/h
M3	Agua residual	37,5 kg/h
M4	Semilla lavada	301 kg/h
M5	Vapor de agua 40 °C	157,56 kg/h
M6	Semilla seca, %Humedad=0.08	143,44 kg/h
M7	Harina de semilla	116,45 kg/h
M8	Extracto etanolico con sólidos	275,1 kg/h ** 209,63 kg/h
M9	Sólidos	116,45 kg/h
M10	Extracto líquido	158,65 kg/h
M11	Nitrógeno	80 kg/h
M12	Solvente con impurezas	83,17 kg/h
M13	Solvente recuperado	5,82 kg/h
M14	Etanol puro	152,83 kg/h
M15	Solvente mezclado	158,65 kg/h
M16	Conservante natural	155,48 kg/h

Fuente: elaboración propia.

5.3 EQUIPOS

Las unidades de proceso anteriormente descritas junto con los balances de materia, permiten establecer y definir las dimensiones y características en el diseño de equipos.

5.3.1 Lavado. En este proceso se pretende eliminar toda clase de residuo adherido a las semillas y de esta forma no alterar los demás procesos a los que debe someterse para extraer los compuestos bioactivos que servirán para la obtención del conservante natural.

La lavadora de frutas que se usará para este proceso es la JP3000 marca NIKO, la cual cuenta con unos cepillos suaves de material no toxico que remueven los residuos que puedan estar adheridos a la semilla, dejándola intacta, está fabricada en acero inoxidable y cuenta con un intercambio gradual de agua durante el lavado.

Ilustración 51. Máquina lavadora JP3000



Fuente: SRAML. Lavadora de fruta. Oct 9. [Consultado el 02 de mayo de 2019]. Disponible en: shorturl.at/adjs6

A continuación, se puede observar la ficha técnica de la lavadora.

Tabla 18. Ficha técnica de la lavadora JP3000, NIKO

Características	Unidad	Valor
Capacidad	kg/h	300-3000
L	mm	2250
W	mm	900
W1	mm	1680
H	mm	1430
H1	mm	770
Peso	kg	265
Alimentación	kW	1,1
Consumo de agua	L	662,5
Volumen total	m ³	3,36

Fuente: SRAML. Lavadora de fruta. [Consultado el 22 de mayo del 2019]. Disponible en: <https://bit.ly/2zfa3JM>

5.3.2 Secado. Se debe llevar la semilla a una humedad que no supere el 10% para asegurar las condiciones de los compuestos bioactivos a extraer, por otro lado, la temperatura no debe exceder los 60°C ya que a esta temperatura empezara a descomponerse.

El deshidratador de frutas 64 cuenta con control de temperatura y humedad, el cual se efectúa mediante un secado aire forzado por medio de ventiladores centrífugos. Su estructura está conformada de acero inoxidable 304 anti-ácido y sus bandejas son estampadas y perforadas en aluminio 45 x 85 cm. Las especificaciones del equipo se muestran en la tabla 19.

Ilustración 52. Deshidratador de frutas 64



Fuente: Exhibir equipos. Deshidratador de frutas 64. [Consultado 22 de mayo de 2019]. Disponible en: <https://exhibirequipos.com/productodeshidratador-industrial-frutas-60-bandejas/>

Tabla 19. Ficha técnica del deshidratador de frutas 64

Características	Unidad	Valor
Capacidad de carga	kg/h	250- 512
Frente	Cm	220
Profundo	Cm	110
Alto	Cm	225
Temperatura	°C	10-70
Espacio entre bandejas	Cm	9
Control de humedad	-	80%-6%
Potencia eléctrica	kW	10* por resistencia

Fuente: Exhibir equipos. Deshidratador de frutas 64. [Consultado 22 de mayo de 2019]. Disponible en: <https://exhibirequipos.com/productodeshidratador-industrial-frutas-60-bandejas/>

5.3.3 Molienda. La molienda permite obtener una materia prima pulverizada que facilita el proceso de extracción, por lo tanto, esta operación se llevara a cabo con un molino de mandíbulas y posteriormente a un molino de bolas.

- **Molino de muelas:** Esta máquina está hecha de acero inoxidable, se establece una alimentación de 30-200 kg/h, con un peso de 400 kg, una potencia de 3~4 kW con mallas de 10-120 y una salida de materia prima con diámetro de partícula de 12 mm.

Ilustración 53. Molino de mandíbulas



Fuente: Alibaba. Molino de harina.
[Consultado 02 de mayo de 2019].
Disponible en: <http://xurl.es/4xn73>

- **Molino de bolas:** Modelo MZ200, marca SHINA fácil a la operación, la finura del producto final es ajustable, fácil de limpiar sin espacio muerto, cuenta con una capacidad de 50 ~ 300 kg/h, pesa 1000 kg, consume una potencia de 7.5 kW y el producto final obtiene una finura que varía de 10~150 μm .

Ilustración 54. Molino de bolas MZ200



Fuente: Alibaba. molino de bolas para alimentos.
[Consultado 22 de mayo de 2019]. Disponible
en: shorturl.at/moGNO

5.3.4 Extracción. El equipo TONX-Percolation01 SLG 500, es apropiado para la tecnología de percolación. Consta de un tubo de ducha el cual continuamente añade solvente rociado uniformemente en el polvo de semilla de aguacate, la solución del lixiviado que se obtiene sale por la parte inferior del tanque de percolación. A

continuación, se muestra un pequeño resumen de la ficha técnica del percolador SLG 500.

Tabla 20. Ficha técnica percolador 01 SLG 500

Características	Unidad	Valor
Volumen total	L	600
Presión de diseño del tanque	Atm	1
Diámetro de la boca de alimentación	Mm	300
Tensión	V	220
Material	-	Acero inoxidable

Fuente: TONX. Percolation01 SLG 500. [Consultado el 20 de mayo del 2019]. Disponible en: <https://bit.ly/33SJ058>

5.3.5 Filtración. El proceso de filtración se efectúa por baches e incluye tres pasos básicos: cierre prensa, filtración y apertura – descarga.¹⁴⁷ Se hace necesario usar un filtro prensa de monoplacas, FM-18/630-150-HT, con 150 litros de volumen de torta, estructura construida en acero inoxidable, presión de cierre hasta 8000 PSI, presión de filtración hasta 120 PSI y cierre a través de bomba hidráulica manual o sistema automático.

Ilustración 55. Filtro de prensa FM-18/630-150-HT



Fuente: AGUATEC S.A.S. Filtro Prensa (FP). [Consultado el 4 de mayo del 2019]. Disponible en: shorturl.at/aeqP0

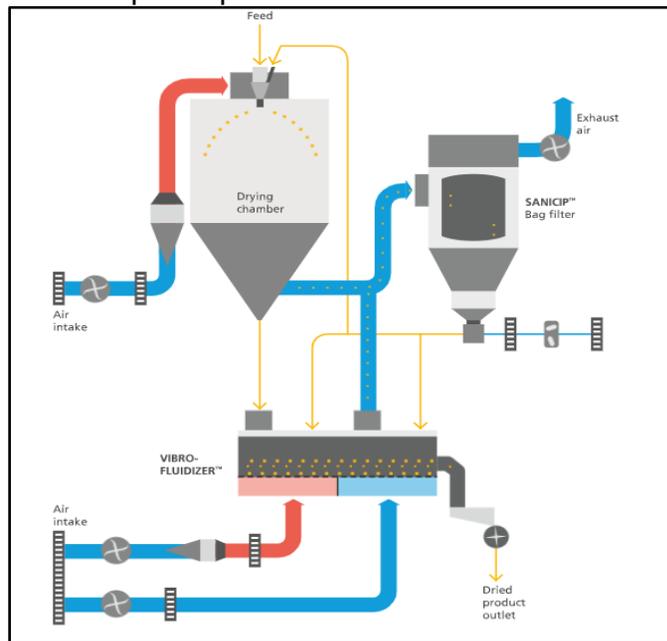
5.3.6 Secado por aspersion. El secado por aspersion es una técnica ampliamente utilizada en la industria de alimentos y/o agroalimentaria. Esta tecnología permite la

¹⁴⁷ AGUATEC S.A.S. Agua y tecnología. Filtro Prensa (FP). [Consultado el 20 de mayo del 2019]. Disponible en: https://www.aguatec.com.co/images/stories/fichas_tec/Filtro%20Prensa.pdf.

obtención de un producto en polvo a partir de un material líquido concentrado, el cual, una vez obtenido en polvo, se enfría y almacena.¹⁴⁸

La parte crítica del proceso de secado por aspersión está en el contacto del producto con el aire caliente ya que de este depende el rendimiento y calidad del secado, se debe tener en cuenta el flujo de aire, temperatura de entrada y salida de aire, diámetro de gota, temperatura de alimentación, velocidad de aire etc.¹⁴⁹

Ilustración 56. Sistema de funcionamiento de secador por aspersión.



Fuente: GEA. Secador por aspersión. [Consultado el 4 de mayo del 2019]. Disponible en: <https://www.gea.com/es/products/conventional-spray-dryer.jsp>

Para llevar a cabo esta operación unitaria se tiene el secador por aspersión ZPG-80 es de tipo centrífugo con estructura cerrada. Todas las piezas en contacto con los materiales, el producto y la entrada de aire están fabricadas con acero inoxidable de alta calidad. Por el dispositivo de purificación de tres grados, el aire filtrado podría cumplir con el requisito de 10,000 clases. El dispositivo de enfriamiento de la pared se instala para mantener la temperatura por debajo de 80°, de modo que los materiales no se coquen ni se deterioren, ni siquiera se pegan en la pared. La eficiencia de recolección de polvo podría incrementarse mucho (más del 98-99%).

¹⁴⁸ CIMA ®. Secado por aspersión. [Consultado el 21 de mayo del 2019]. Disponible en <http://www.cimaindustries.com/wp-content/uploads/assets/pdf/es/farmaceutica/secador.pdf>. p.2

¹⁴⁹ Ibid., p.2.

Tabla 21. Parámetros técnicos del secador por aspersión ZPG-80.

Características	Unidad	Valor
Temperatura de entrada de aire	°C	140-220* ajustable
Temperatura de escape de aire	°C	60-100* ajustable
Agua nominal evaporación	kg/h	100
Alimentación	kg/h	80-108
Contenido final de humedad	-	3-5%
Dimensiones generales	m	18 x 13 x 18
Diámetro de la torre de secado	mm	7500
Tasa de recogida de productos	-	95-98%

Fuente: CHANGZHOU JINQIAO SPRAY DRYING AND ENGINEERING CO., LTD. ZPG spray dryer. [Consultado el 20 de mayo del 2019]. Disponible en: <https://www.jqspray.com/Product/ZPG-Spray-Dryer-For-Chinese-Traditional-Medicine.html>

5.3.7 Evaporación. Lo que se quiere con esta unidad es obtener el etanol recuperado de la extracción el cual es de 145,95 L/h, por lo que se hace indispensable el uso del evaporador en acero inoxidable YMD-15S-2, su fuente de alimentación es eléctrico con un voltaje de 220V, un peso de 260 kg, un gasto energético equivalente a 6kW y con un método de alimentación de bombas de engranajes de alta precisión. Las especificaciones técnicas se describen en la tabla 22.

Tabla 22. Especificaciones técnicas de evaporador YMD-15S-2

Características	Unidad	Valor
Evaporación zona	m ²	1,5
Alimentación	L/h	60-180
Altura del equipo	mm	4500
Dimensiones	cm	216x67x215
Velocidad máxima	rpm	50-350
Nivel de vacío	mbar	0,001

Fuente: YHCHEM. Evaporador YMD-15S-2. [Consultado el 20 de mayo del 2019]. Disponible en: <https://bit.ly/2Hivdeu>

5.4 ANÁLISIS PRELIMINAR FINANCIERO DEL PROYECTO

A continuación, se presenta el análisis financiero preliminar para la obtención del conservante natural a partir de la semilla de aguacate variedad Hass (*Persea americana mil.*), por el método de lixiviación o percolación, con el fin de establecer la factibilidad financiera del mismo. En ese orden de ideas se procederá a utilizar una serie de indicadores los cuales permiten evaluar si es pertinente implementar el proyecto o no, el cual se proyecta a 5 años.

Para la evaluación financiera, no se tendrán en cuenta costos de etiqueta, envasado y publicidad, debido a que el proyecto será enfocado en la obtención del conservante natural y su desarrollo se llevará a cabo por las comunidades vulnerables de la corporación mundial de la mujer.

Los indicadores que se utilizaron son: El Valor Presente Neto (VPN), el cual permite ver el valor presente de los flujos de caja del proyecto por medio de una tasa de descuento; La Tasa Verdadera de Rentabilidad (TVR) también llamada Tasa Interna de Retorno (TIR), la cual permite ver la rentabilidad porcentual del proyecto comparada con la Tasa de Descuento; y por último El Índice de Rentabilidad (IR), el cual se define como el Valor Presente Neto por peso invertido en el proyecto.

5.4.1 Estudio económico. En los proyectos de inversión es necesario establecer las inversiones necesarias para puesta en marcha del proyecto. En una Proyección de tiempo se tiene información suficiente para determinar el monto de la inversión en activos fijo, activos diferidos y capital de trabajo.

- **Inversiones del Proyecto**

Las inversiones iniciales están constituidas por el conjunto de pagos que se tendrán que hacer para poder adquirir todos los bienes y servicios necesarios para la implementación del proyecto, es decir para dotarlo de su Capacidad Operativa

La inversión del proyecto se divide en dos categorías: Inversión fija e inversión en Capital de Trabajo. La inversión fija se subdivide en inversión en activos fijos y diferidos.

Tabla 23. Costos activos fijos tangibles

Concepto	Cantidad	capacidad	Costo unitario	Costo total
Terrenos	1		\$ -	\$ -
Edificaciones	1		\$ 34.145.760	\$ 34.145.760
MAQUINARIA Y EQUIPOS				
*Lavadora JP3000 Niko	1	301 kg/h	\$ 12.369.168	\$ 12.369.168
*Deshidratador de frutas 64	1	301 kg/h	\$ 20.615.280	\$ 20.615.280
*Tanque de almacenamiento	2	200 kg/h	\$ 1.717.940	\$ 3.435.880
*Percolador 01 SLG 500	1	160 L/h	\$ 3.435.880	\$ 3.435.880
*molino de muelas	1	140 kg/h	\$ 6.528.172	\$ 6.528.172
*molino de bolas	1	140 kg/h	\$ 3.435.880	\$ 3.435.880
*Secador por aspersion ZPG-80	1	200 L/h	\$ 17.179.400	\$ 17.179.400
*Filtro Prensa	1	280 kg/h	\$ 16.835.812	\$ 16.835.812
*Evaporador YMD-15S-2	1	100 kg/h	\$ 3.435.880	\$ 3.435.880
EQUIPOS DE COMPUTO				
*Computador	2	-	\$ 1.000.000	\$ 2.000.000
*Impresora	2	-	\$ 700.000	\$ 1.400.000
MUEBLES Y ENSERES				
*Mesa de trabajo	4	-	\$ 315.000	\$ 1.260.000
Sillas	5	-	\$ 30.000	\$ 150.000
*Escritorios	3	-	\$ 450.000	\$ 1.350.000
Reactivos				
Etanol		155 kg	\$ 901.782	\$ 901.782
Nitrógeno		80 kg	\$ 135.900	\$ 135.900
Total				\$ 128.614.794

Fuente: elaboración propia

En la tabla 23, contemplan la adquisición de los bienes de acuerdo a la capacidad que necesita la planta para su operación, estas consultas realizadas se llevaron a cabo gracias a recursos como “Alibaba” y “mercado libre”, cuyo consorcio está

dedicado al comercio electrónico por internet abriendo la posibilidad de compra de estos equipos.

Con todo, no solo los activos fijos tangibles se tienen en cuenta, se hace necesario también los activos fijos intangibles que serán contemplados para la obtención del conservante natural, por lo cual se expresarán en la tabla 24

Tabla 24. Activos fijos intangibles

Descripción	Precio (COP)	Precio +IVA (COP)	Total (COP)
Registro invima	\$ 4.406.466	\$ 5.243.695	\$ 5.243.695
Capacitación	\$ 3.200.000	\$ 3.808.000	\$ 3.808.000
		Total	\$ 9.051.695

Fuente: elaboración propia.

En la inversión en activos intangibles, se hace necesario la implementación del conservante natural al registro invima, correspondiente a la inspección y control de calidad de este aditivo alimenticio para su consumo, como también inversiones en capacitación para transferir el “conocimiento y habilidades que se desempeñan en el lugar de trabajo, con el objetivo de alcanzar el desempeño laboral y aplicar estrategias de trabajo efectivas”.¹⁵⁰

5.4.2 Costos de producción. Son los gastos que están asociados para mantener un proyecto en funcionamiento, aquí se contemplan costos de materia prima, insumos, mano de obra que permiten que se lleve a cabo el proyecto en la línea de procesamiento.¹⁵¹

Primeramente, la mano de obra administrativa y mano de obra laboral es fundamental en el contacto directo con la producción en la planta.

Tabla 25. Costos mano de obra laboral

Cargos de planta	Personal	Sueldo bruto	Aportes	Prestaciones sociales	Total al mes	Total al año
Ingeniero químico	2	\$ 2.484.348	\$ 750.770	\$542.085	\$7.554.405	\$ 90.652.865
operarios	3	\$ 828.116	\$ 250.257	\$180.695	\$3.777.203	\$45.326.432
						\$11.331.608
						\$135.979.297

Fuente: elaboración propia

¹⁵⁰ BROAD, Mary L.; NEWSTROM, John W. Transfer of Training: Action-Packed Strategies To Ensure High Payoff from Training Investments. Corporate and Professional Publishing Group, Addison-Wesley Publishing Co., One Jacob Way, Reading, MA 01867 (discount on quantity orders)., 1992.

¹⁵¹ ANDERSON, James E.; VAN WINCOOP, Eric. Trade costs. Journal of Economic literature, 2004, vol. 42, no 3, p. 691-751.

Tabla 26. Costos administrativos.

Administrativos	Personal	Sueldo bruto	Aportes	Prestaciones sociales	Total al mes	Total al año
Secretaria	1	\$828.116	\$250.257	\$180.695	\$1'259.068	\$15'108.811
					TOTAL NOMINA (mes)	\$1'259.068
					TOTAL	\$15'108.811

Fuente: elaboración propia

En la tabla 25 y tabla 26 , se tuvieron en cuenta un tiempo de un año estableciendo un sueldo acorde a los turnos laborales de 8 horas que van a desempeñar los empleados , donde solo se contemplaron gastos adicionales acorde a la normatividad del código del trabajo , de acuerdo a porcentajes de aportes parafiscales (Arl 5% , Eps 8.5%, pensión 12% , cajas de compensación 4%) y las prestaciones sociales correspondientes (cesantías 8.33% , intereses de cesantías 1 % , prima legal 8.33% y vacaciones de 4.16%) todos estos valores tomados del código sustantivo del trabajador¹⁵².

Debido a que el horizonte de planeación del proyecto será a 5 años, esto tendrá que contemplarse en el aumento de salario mínimo legal vigente por año, lo cual se estima un valor del 5.4% anual para los trabajadores.

Tabla 27. Nomina proyectada a 5 años.

Año	Nomina (COP)
2020	\$ 228.001.836
2021	\$ 353.402.846
2022	\$ 547.774.411
2023	\$ 849.050.337
2024	\$ 1.316.028.022

Fuente: elaboración propia

Con todo, la planta de obtención del conservante natural requerirá insumos necesarios de electricidad, agua y alcantarillado en los 5 años de producción del conservante para así poder estimar los costos totales por año de estos servicios. Donde los servicios eléctricos tendrán un crecimiento anual del 4% anual y los costos para el agua (alcantarillado acueducto) tendrá un incremento del 5% anual, Para estos costos se contemplaron únicamente las horas de operación de la planta de 8 horas diarias, durante los 22 días al mes para un año de servicio. Para tener

¹⁵² Abril, Ó. E. Z., & Guzmán, S. A. C. (2015). Incidencia de la suspensión del contrato de trabajo en el pago de la prima legal de servicios. *Revista Via Iuris*, (19), 51-65.

en cuenta esta estimación de costos, se contemplan costos del año 2019 que pueden ser consultados en el anexo C y D

Tabla 28. Servicios públicos requeridos

Concepto	Requerimiento	Unidad de medida	Costo unitario	Cantidad	Costo total	Costo total
Acueducto - alcantarillado	200	L	\$3.600	m3	\$ 126.720	\$1.520.640
Energía eléctrica	18	kWh	\$611	kWh	\$1.936.915	\$23.242.982

Fuente: elaboración propia

Tabla 29. Energía eléctrica proyectada a 5 años

Año	Energía eléctrica (COP)
2020	\$ 23.242.982
2021	\$ 24.172.702
2022	\$ 25.139.610
2023	\$ 26.145.194
2024	\$27.191.002

Fuente: elaboración propia

Tabla 30. servicio de agua proyectada a 5 años

Año	Agua (COP)
2020	\$ 1.520.640
2021	\$ 1.596.672
2022	\$ 1.676.506
2023	\$ 1.760.331
2024	\$1.848.347

Fuente: elaboración propia

Tabla 31. Costos totales de inversión

Activos Fijos	\$ 128.614.794
Activos intangibles	\$ 9.051.695
Costo mano de obra y administrativos	\$ 151.088.108
Servicios de agua, energía eléctrica.	\$ 24.763.622
Total	\$ 288.754.597

Fuente: elaboración propia

5.4.3 Inversión inicial. La estructura de la inversión inicial del proyecto está definida de la siguiente manera:

Para el presente proyecto se contará con una inversión total de COP \$ 288.754.597, distribuida porcentualmente en dos partes de 40% que corresponde a una inversión propia de COP \$77918.625 y una segunda parte de 60% que corresponde a un préstamo de libre inversión adquirido en BANCOLOMBIA por valor de COP \$116´877.938 con un plazo de 60 meses a una tasa del 17.72 % EA.

Los ingresos que se esperan obtener del proyecto provendrán de la venta de las unidades vendidas de conservante natural que se van a ofrecer; se busca entonces que a en un horizonte de 5 años el proyecto alcance su punto de equilibrio¹⁵³ y se obtengan los siguientes flujos de cada para cada uno de los años próximos.

5.4.4 Financiación (tabla amortización). Como se muestra en el balance inicial para poder iniciar el proyecto, fue necesario adquirir un préstamo de \$116.877.938 el cual se pagará en 5 años con una tasa de interés del 26% anual, con una cuota de \$44.354.762.

Tabla 32. Amortización de crédito

n	Saldo	Interés	Cuota	Amortización
0	\$116.877.938	0	0	0
1	\$102.911.439,86	\$30.388.264	\$ 44.354.762,02	\$ 13.966.498,14
2	\$85.313.652,21	\$26.756.974	\$ 44.354.762,02	\$ 17.597.787,66
3	\$63.140.439,76	\$22.181.550	\$ 44.354.762,02	\$ 22.173.212,45
4	\$35.202.192,08	\$16.416.514	\$ 44.354.762,02	\$ 27.938.247,68
5	\$ 0,00	\$9.152.570	\$ 44.354.762,02	\$ 35.202.192,08

Fuente: elaboración propia.

5.4.5 Flujo de caja. Hace referencia a las entradas y salidas de efectivo de un proyecto de inversión, para un horizonte de planeación se tiene un periodo cero, correspondiente al periodo en el cual se efectúan las inversiones y n periodos de

¹⁵³ En la pestaña “Costos de Producción” del documento Excel Anexo, se puede observar los cálculos del punto de equilibrio.

inversión¹⁵⁴, donde en el caso de la obtención del conservante será de 5 años empezando en el 2020 al año 2024, con esto se busca proyectar los resultados de los activos fijos tangibles, intangibles, capital de trabajo, materias primas etc. Esto con el fin poder determinar si la viabilidad financiera del proyecto es positiva o de otra forma no se puede llevar a cabo el proyecto.

Tabla 33. Flujo de caja del proyecto

	0	1	2	3	4	5
Ingresos		\$750.000.000	\$1.253.500.000	\$1.663.340.000	\$1.942.543.500	\$2.258.530.57
Costos producción		\$160.742.920	\$169.227.532	\$178.164.473	\$187.578.042	\$197.493.855
Gastos administrativos		\$15.108.811	\$15.939.796	\$16.816.484	\$17.741.391	\$18.717.168
Gastos ventas	-	-	-	-	-	-
Gastos financieros	-	-	-	-	-	-
Depreciación y amortización diferidos		\$3.490.854	\$3.490.854	\$3.490.854	\$3.490.854	\$3.490.854
Utilidad antes de impuestos		\$570.657.415	\$1.064.841.818	\$1.464.868.189	\$1.733.733.213	\$2.038.828.70
Impuesto (37.5%)		\$194.023.521	\$399.315.682	\$549.325.571	\$650.149.955	\$764.560.76
Utilidad después de impuestos		\$1.146.091.353	\$2.011.861.584	\$2.658.934.392	\$2.994.275.846	\$3.295.057.36
Depreciación y Amort diferidos		\$3.490.854	\$3.490.854	\$3.490.854	\$3.490.854	\$3.490.854
Amort. Credito		\$ 20.703.089	\$ 26.085.892	\$ 32.868.224	\$ 41.413.962	\$52.181.592
INVERSIONES						
Inversión fija	77918625					
Inversión diferida						
Inversión de capital de trabajo	-					
Recuperación de capital de trabajo	-					
Valor de liquidación						
Flujo de caja neto	\$77.918.625	\$359.421.659	\$642.931.099	\$886.165.248	\$1.045.660.150	\$1.225.577.19

Fuente: elaboración propia

¹⁵⁴ Medina G, J. P., & Valdés P, R. (1998). Flujo de caja y decisiones de inversión en Chile: evidencia de sociedades anónimas abiertas. Cuadernos de Economía, p.302-310.

5.4.6 El criterio del Valor Presente Neto. Plantea que el proyecto puede llevarse a cabo si su valor actual neto es igual o superior a cero donde el valor de la VPN es matemáticamente demostrado como la diferencia entre todos los ingresos y egresos del proyecto. La expresión matemática que permite el cálculo de la VPN es la siguiente¹⁵⁵:

$$VPN = \sum_{t=1}^n \frac{Y_t}{(1+TIO)^t} - \sum_{t=1}^n \frac{E_t}{(1+TIO)^t} - I_o$$

yt = Flujo de ingresos del proyecto

Et = Flujo de egresos del proyecto

Io = inversión inicial del proyecto

TIO = tasa interna de oportunidad

5.4.7 TIO (tasa interna de oportunidad). Es aquella tasa mínima que se está dispuesto a aceptar, es decir aquella rentabilidad mínima en perspectiva que se espera ganar al llevar a cabo la inversión. Esta tasa se define de acuerdo al conocimiento que se tenga sobre el proyecto y demás análisis que se hagan al respecto. Para nuestro proyecto la TIO fue del 11% obtenido mediante la ecuación siguiente¹⁵⁶.

$$TIO = \frac{[CDT]+[DTF]+[Tasa Inversor]}{3}$$

5.4.8 TIR (tasa interna de retorno). La TIR es una herramienta financiera utilizada como indicador que permite medir la bondad económica de los proyectos porque su análisis determina si dicha inversión generará valor y recuperará la totalidad de la inversión realizada. Esta tasa es la que hace que el valor presente neto sea cero.¹⁵⁷

$$\sum_{t=1}^n \frac{BN_t}{(1+TIR)^t} - I_o = 0$$

- *BN = Beneficio neto del flujo en el periodo t.*
- *TIR = tasa interna de retorno*
- *IO = inversión en el periodo 0.*

¹⁵⁵ MENDOZA, Alberto García. Evaluación de proyectos de inversión. McGraw-Hill, 1998.

¹⁵⁶ MÁRQUEZ DÍAZ, Carlos L.; CASTRO, M.; JULIÁN, F. uso del valor actual neto, tasa interna de retorno y relación beneficio-costos en la evaluación financiera de un programa de vacunación de fiebre aftosa en el estado Veracruz, Venezuela. revista de la facultad de ciencias veterinarias, 2015, vol. 56, no 1, p. 52-57.

¹⁵⁷ Ibid. p.55

5.4.9 Indicadores económicos. A continuación, se presenta los indicadores económicos para el proyecto.

- Depósito a Término O CDT: se refiere al año inmediatamente anterior de iniciar el proyecto, esto es un título valor que emite un banco a un cliente que ha hecho un depósito de dinero con el propósito de constituir el CDT. El CDT se hace por un plazo o término de tiempo determinado que debe ser como mínimo de 30 días.¹⁵⁸
- Depósito a plazo fijo o DTF: es una tasa o porcentaje muy utilizada, principalmente en el sistema financiero. Se calcula como el promedio ponderado de las diferentes tasas de interés de captación utilizadas por los bancos, corporaciones financieras, corporaciones de ahorro y vivienda y compañías de financiamiento comercial para calcular los intereses que reconocerán a los certificados de depósito a término (CDT) con duración de 90 días.¹⁵⁹
- Tasa subjetiva del inversor: el beneficio neto esperado para que la inversión del proyecto sea rentable y se pueda tener grandes ingresos operacionales en la planta.¹⁶⁰
- El valor calculado para la TIO corresponde al 11% Efectivo Anual (EA) equivalente al 0.92% Efectivo Mensual (EM), donde el depósito a plazo fijo actual en Colombia es de 4.55%, el depósito a término según el banco de la república es de 5.85 % y la tasa subjetiva del inversor es de 22.6%.

5.4.10 Ingresos operacionales. Son los de las operaciones desarrolladas en cumplimiento del objeto social y que compromete, la entrega de bienes o servicios, de una actividad industrial.

Para este proyecto nos basamos en un conservante natural de la industria de alimentos, donde el precio por libra del producto Ácido cítrico es de \$89.663, en vista que en el proyecto se producirán 2.20 libras o 1 kg el precio será de 150.000 teniendo en cuenta una reducción de precios del 16.35% para poder competir en el mercado.

A continuación, con ayuda Excel, se procede a llevar todos los flujos del proyecto a presente para poder trabajar cada uno de los periodos, además Si la TIR es mayor que la TIO: Se acepta el proyecto o inversión dado que genera más valor de lo esperado o de lo que podrían generar otras inversiones, además el valor Presente

¹⁵⁸ CHIVATA, Daniel; DUARTE, Camilo. Diseño conceptual de una planta para el aprovechamiento de caucho molido de neumáticos usados a partir de pirolisis.2018. Citado por: MELO, Felipe, Op.cit., p. 127.

¹⁵⁹ AYAVIRI, Daniel. Contabilidad básica y documentos mercantiles. Buenos Aires. 2010. p.187.

¹⁶⁰ ISPIERTO, Anna, VILLANUEVA, Victoria. Perfil inversor de los hogares españoles: Análisis de la encuesta financiera de las familias. 2010. p.120.

Neto durante los 5 años de proyección equivale a \$4.246.412.590 COP. Este valor es positivo y el proyecto es viable financieramente, el valor de la TIR menor que el valor de la TIO por lo cual es confiable invertir.

Tabla 34. Indicadores financieros del proyecto

Flujo a presente	\$ 2.099.706.138
Flujo periodo 0	\$77.918.625
VPN	\$ 4.246.412.590,27
TIR	75%
TIO	11%
Periodo de recuperación	1,53

Fuente: elaboración propia.

La tasa interna de retorno es elevada, ya que las inversiones en materia prima que vamos a utilizar para la realización del proyecto son residuos aprovechables de la empresa productos del campo san Gregorio, además el solvente que se utiliza es recuperado y durante el horizonte de planeación los costos del solvente para la extracción del conservante natural, se reducen notoriamente a lo largo de los periodos de evaluación financiera.

6. CONCLUSIONES

- Mediante la caracterización de la semilla de aguacate Variedad Hass (*Persea Americana Mill*) se pudieron establecer las propiedades físicas y químicas necesarias para conocer con el tipo de semilla que estábamos tratando, donde los resultados para cada una de las propiedades fueron: peso promedio ($35,5 \pm 0.61 \text{ g}$), diámetro promedio ($38,75 \pm 0.6 \text{ mm}$), longitud promedio ($39,1 \pm 0.52 \text{ mm}$), relación longitud-diámetro ($1.007894 \pm 0.012 \text{ mm}$), densidad aparente aireada (0.1475 g/cm^3), densidad aparente empacada (0.1524 g/cm^3), porcentaje de cenizas ($1.666 \% \pm 4.032 \%$), porcentaje de humedad ($56.32 \% \pm 29.89 \%$), donde se establecen las condiciones a las cuales deben someterse las semillas para realizar una buena adecuación de la muestra y así proceder a la extracción adecuada de polifenoles optima de la semilla de aguacate variedad Hass *Persea americana Mill*.
- Para la determinación de las mejores condiciones en el proceso de extracción se tuvieron en cuenta factores como la temperatura y el porcentaje de rendimiento de la extracción. De esta forma, se encontraron las mejores condiciones que optimizan en gran medida a la extracción de los polifenoles, escogiendo el mejor método adecuado para así poder llevar el proceso a una escala a la industria. Basados en los cálculos del rendimientos descritos en lixiviación y ultrasonido, se dedujo que la extracción por lixiviación obtuvo lugar a una mejora en la cantidad de polifenoles extraídos ya que las recirculaciones que se hacían de forma periódica, permitía el contacto sólido líquido más frecuente, lo que llevo a concentrar el extracto, por ende su cantidad de polifenoles era muy superior frente a los otros métodos, por otro lado el método de extracción que fue el segundo mejor en la obtención de polifenoles fue el de ultrasonido malla 20, este método presento un contenido de polifenoles alto, por la razón de contar con un diámetro de partícula mucho mayor lo que permitía el mayor contacto sólido-líquido, en cuanto a la actividad antioxidante el mejor método fue la lixiviación con una actividad antioxidante promedio de $275,333 \text{ } (\mu\text{mol Eq Trolox})/\text{mg}$ y contenido total de polifenoles de 152 mg equivalente GAE/L.
- En cuanto al desempeño del conservante obtenido se midió parámetros organolépticos y la actividad que presentaba en la cinética de la polifenoloxidasas, enzima presente en la pulpa de aguacate, todo esto comparado con conservantes comerciales (ácido cítrico); evaluados en tres diferentes concentraciones a diferentes temperaturas, sin embargo, con la acidez titulable se obtuvo un comportamiento aceptable a una temperatura de 4°C , por lo cual las encuestas organolépticas se fijaron a esa temperatura, variando únicamente la concentración del conservante. Además, se evaluó la actividad enzimática como indicador de inhibición de la polifenoloxidasas para las tres concentraciones, donde el conservante al 0.5% tuvo mejor actividad, actuando como efector negativo en la enzima. Otro parámetro influyente es el pH donde la pulpa de aguacate

presentaba deterioro a pH inferiores a 5.5 y mayores a 6.8, lo cual la conservación del extracto evaluado se encontraba en el rango óptimo. Al aplicar las encuestas con las condiciones anteriormente nombradas, el mejor resultado se obtuvo a una concentración de conservante de 0.1% con una temperatura de 4°C.

- Para la evaluación financiera se planteó mediante la extracción por lixiviación, llevando está a escala piloto, tomando en cuenta los residuos producidos por la empresa productos del campo San Gregorio y estableciendo de este modo la cantidad por hora a producirse en la planta basados en una escala de tiempo de 23 días al mes aproximadamente. Para el análisis financiero se tomó como referente el VPN (Valor Presente Neto) y la TIR (Tasa interna de retorno) donde el VPN que se obtuvo fue mayor que cero, esto indica que se puede aceptar el proyecto, sumado a esto la TIR arrojó que esta es menor que la tasa de descuento ratificando de este modo que se le da aceptabilidad al proyecto.

7. RECOMENDACIONES

- Establecer el método de secado de la muestra puesto que esta contiene un porcentaje de humedad del 56,5% aproximadamente, lo cual no es factible al momento de realizar la extracción de los compuestos fenólicos ya que las condiciones que debe presentar la muestra no pueden exceder el 10% de humedad presente en la misma.
- Para una mejor caracterización de los compuestos fenólicos se pueden utilizar técnicas más avanzadas en la medición de los compuestos bioactivos, donde se puede dar un mejor barrido de la caracterización molecular del extracto.
- En cuanto a la dosificación del conservante natural es pertinente evaluarlo a rangos menores de 0.1% e identificar las características organolépticas presentes en estos rangos, de igual forma evaluar a diferentes temperaturas, manteniendo la muestra de aguacate lo mejor asépticamente tratado.
- Evaluar los diferentes métodos de extracción, estableciendo las mismas condiciones para realizar de tal modo una comparación más asertiva, no dejando a un lado las técnicas avanzadas de extracción que pueden brindar una mejor calidad al producto final.
- Evaluar el ciclo de vida del alimento cuando se adiciona el conservante natural y compararlo con el ácido cítrico a diferentes concentraciones, de modo tal que se identifique el deterioro del alimento.
- Emplear el residuo sólido que procedente de la filtración en el proceso de extracción del conservante natural como compostaje o evaluarlo en un biodigestor.

BIBLIOGRAFIA

TORRES C *et al.* Extraction of antioxidants from mango seed kernel: Optimization assisted by microwave. *Food and Bioproducts Processing*. 2017.. 196 p. [en línea]. [Consultado el 3 de abril de 2019]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960308517300901>. doi: 10.1016/j.fbp.2017.07.005.

VARGHESE S, Narmadha R, GOMATHI D, KALAISELVi M, DEVAKI K. Phytochemical screening and HPTLC finger printing analysis of *Citrullus lanatus* (thunb.) seed. *Journal of Acute Disease*. 2013. 126 p. [en línea]. [Consultado el 2 de marzo de 2019]. Disponible en: <https://www.openaire.eu/search/publication?articleId=doajarticles::41c68425f4fc0101df1d3e658d44491c>. doi: 10.1016/S2221-6189(13)60111-0.

DÁVILA JA, ROSENBERG M, CASTRO E, CARDONA CA. A model biorefinery for avocado (*persea americana mill.*) processing. *Bioresource Technology*. 2017; 243 p. [en línea]. [Consultado el 13 de noviembre de 2018]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852417309641>. doi: 10.1016/j.biortech.2017.06.063.

ORQUEDA ME, RIVAS M, ZAMPINI IC, *et al.* Chemical and functional characterization of seed, pulp and skin powder from chilito (*Solanum betaceum*), an Argentine native fruit. phenolic fractions affect key enzymes involved in metabolic syndrome and oxidative stress. *Food Chemistry*. 2017. 216 p. [en línea]. [Consultado el 22 de noviembre de 2018]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814616312456>. doi: 10.1016/j.foodchem.2016.08.015.

PANJA P. Green extraction methods of food polyphenols from vegetable materials. *Current Opinion in Food Science*. 2017. [en línea]. [Consultado el 22 de octubre de 2018]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2214799317301108>. doi: 10.1016/j.cofs.2017.11.012.

MORAIS DR, ROTTA EM, SARGI SC, *et al.* Antioxidant activity, phenolics and UPLC–ESI (–)–MS of extracts from different tropical fruits parts and processed peels. *Food Research International*. 2015. 399 p. [en línea]. [Consultado el 22 de octubre de 2018]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996915301708>. doi: 10.1016/j.foodres.2015.08.036.

SEGOVIA FJ, HIDALGO GI, VILLASANTE J, RAMIS X, ALMAJANO MP. Avocado seed: A comparative study of antioxidant content and capacity in protecting oil models from oxidation. *Molecules* (Basel, Switzerland). 2018. 2421 p. [en línea].

[Consultado el 23 de septiembre de 2018]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30241408>. doi: 10.3390/molecules23102421.

SOONG Y, BARLOW PJ. Antioxidant activity and phenolic content of selected fruit seeds. *Food Chemistry*. 2004. 417 p. [en línea]. [Consultado el 23 de septiembre de 2018]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814604001293>. doi: 10.1016/j.foodchem.2004.02.003.

FIGUEROA JG, BORRÁS-LINARES I, LOZANO-SÁNCHEZ J, SEGURA-CARRETERO A. Comprehensive identification of bioactive compounds of avocado peel by liquid chromatography coupled to ultra-high-definition accurate-mass Q-TOF. *Food Chemistry*. 2018. 716 p. [en línea]. [Consultado el 12 de septiembre de 2018]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814617319507>. doi: 10.1016/j.foodchem.2017.12.011.

GUERRERO L, BARBOSA E, MARTÍNEZ A, GONZÁLEZ-MONDRAGÓN E, BETANCUR-ANCONA D. Some physicochemical and rheological properties of starch isolated from avocado seeds. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2016. 308 p. [en línea]. [Consultado el 7 de febrero de 2019]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S014181301630054X>. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2016.01.052.

SEGOVIA Francisco, PEIRÓ Sara, GALLEGO María, NURUL Aini, ALMAJANO María. Avocado seeds: Extraction optimization and possible use as antioxidant in food. *Antioxidants*. 2014.454 p. [en línea]. [Consultado el 7 de febrero de 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26784880>. doi: 10.3390/antiox3020439.

FIGUEROA JG, BORRÁS-LINARES I, LOZANO-SÁNCHEZ J, SEGURA-CARRETERO A. Comprehensive characterization of phenolic and other polar compounds in the seed and seed coat of avocado by HPLC-DAD-ESI-QTOF-MS. *Food Research International*. 2018. 763 p. [en línea]. [Consultado el 14 de febrero de 2019]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996917308529>. doi: 10.1016/j.foodres.2017.11.082.

WANG W, BOSTIC TR, GU L. Antioxidant capacities, procyanidins and pigments in avocados of different strains and cultivars. *Food Chemistry*. 2010.1198 p. [en línea]. [Consultado el 7 de febrero de 2019]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814610004127>. doi: 10.1016/j.foodchem.2010.03.114.

ANEXOS

Anexo A.

TABLAS DE CARACTERIZACIÓN FÍSICA DE EL RESIDUO DE SEMILLA DE AGUACATE VARIEDAD HAS PERSEA AMERICANA MILL

Tabla 35. Peso de 30 semillas de aguacate variedad Hass *Persea americana mil.*

Unidad	Peso (g)
1	37,43
2	40,56
3	39,45
4	32,43
5	33,74
6	29,55
7	34,98
8	31,15
9	30,44
10	39,55
11	36,46
12	37,89
13	40,3
14	38,15
15	34,78
16	36,32
17	31,06
18	32,45
19	30,4
20	39,12
21	36,9
22	33,67
23	35,75
24	36,98
25	33,29
26	37,51
27	36,9
28	40,4
29	31,36
30	35,63
Total	1064,6 g
Promedio	35,49±0,61 g
Desviación estándar	3,3202

Fuente: elaboración propia.

Tabla 36. Relación diámetro y longitud de la semilla

Grupo	Diámetro (mm)	Longitud (mm)	Relación L/D	Forma
Promedio 1	38,89	40,04	1,03	Ovoide
Promedio 2	42,19	40,27	0,95	Esférica
Promedio 3	40,91	39,33	0,96	Esférica
Promedio 4	41,44	42,67	1,03	Ovoide
Promedio 5	36,91	38,85	1,05	Ovoide
Promedio 6	37,55	38,83	1,03	Ovoide
Promedio 7	38,03	38,26	1,01	Ovoide
Promedio 8	39,21	37,38	0,95	Esférica
Promedio 9	38,26	36,258	0,95	Esférica
Promedio 10	39,69	40,52	1,02	Ovoide
Promedio 11	37,53	40,25	1,07	Ovoide
Promedio 12	38,8	39,31	1,01	Ovoide
Promedio 13	34,27	35,69	1,04	Ovoide
Promedio total	38,7±0,6	39,05±0,5	1,01±0,012	
Desviación estándar	2,08	1,87	0,89	

Fuente: elaboración propia.

Tabla 37. Determinación de porcentaje de humedad de la semilla.

		Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
		Peso g	Peso g	Peso g
	Crisol vacío	24,4588	23,1234	24,3267
	Crisol con muestra	29,6117	28,3469	29,3895
3 horas	Peso 1	26,7375	27,1552	26,5198
1 hora +	Peso 2	26,7368	25,4346	26,5125
1 hora +	Peso 3		25,4034	
	Diferencia	0,0007	0,0312	0,0073
	% Humedad	55,7919	56,3511	56,8263
	Desviación estándar	2,1107	1,9834	2,0763

Fuente: elaboración propia.

Anexo B.TABLAS DE CURVA DE CALIBRACIÓN DE ÁCIDO GÁLICO Y CONTENIDO TOTAL DE POLIFENOLES POR FOLIN-CIOCALETEU

Tabla 38. Datos para la curva de calibración con ácido gálico.

Concentración (ppm)	Absorbancia (765 nM)
2	0,0045
4	0,0075
6	0,0095
8	0,0125
10	0,0185
12	0,02
14	0,0225
Desviación estándar	0.0068

Fuente: elaboración propia

Tabla 39. Absorbancias para el cálculo de contenido de polifenoles totales.

Método de Extracción	Absorbancia (765 nM)			Promedio
	Experimento 1	Experimento 2	Experimento 3	
Ultrasonido Malla.20	0,022	0,025	0,024	0,023
Ultrasonido Malla.40	0,015	0,01	0,011	0,012
Ultrasonido Malla.60	0,02	0,021	0,02	0,020
Soxhlet	0,01	0,006	0,005	0,007
Lixiviación	0,026	0,024	0,022	0,024
Desviación estándar	0.0075			

Fuente: elaboración propia.

TABLAS DE CURVA DE CALIBRACIÓN CON TROLOX Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE CON EL RADICAL DPPH

Tabla 40. Curva de calibración trolox

Concentración (μmol)	Absorbancia (517 nM)
100	0,015
300	0,0253
400	0,0326
500	0,036
600	0,0403
700	0,043
800	0,0473
Desviación estándar	0.011480833

Fuente: elaboración propia.

Tabla 41. Absorbancias para el cálculo de actividad antioxidante DPPH

Método de Extracción	Absorbancia (517 nM)			Promedio
	Experimento 1	Experimento 2	Experimento 3	
Ultrasonido Malla.20	0,015	0,015	0,014	0,0015
Ultrasonido Malla.40	0,01	0,01	0,01	0,001
Ultrasonido Malla.60	0,01	0,01	0,011	0,0010
Soxhlet	0,007	0,006	0,008	0,0007
Lixiviación	0,023	0,022	0,008	0,0017
Desviación estándar	8,4248			

Fuente: elaboración propia.

Anexo C. ENCUESTAS PARA EL ANALISIS ORGANOLEPTICO, FORMULADAS PARA DIFERENTES CONCENTRACIONES DE CONSERVANTE.

Ilustración 57. Encuesta de consumo de aguacate.


Fundación
Universidad de América

Encuestas
Características de muestras de guacamole del aguacate
variedad Hass (*Persea americana Mill*).

Encuesta No.1
Nombre del encuestado: Sonia López Zambrano Edad: 48 años
Encuesta de consumo de aguacate

INSTRUCCIONES.
El objeto de esta encuesta es conocer el consumo de aguacate, su información nos servirá para motivos de investigación por lo que solicitamos marcar con una X la respuesta que crea conveniente.

1. ¿Consume usted aguacate?
SI (X) NO ()

2. ¿Con qué frecuencia usted consume aguacate?
() Todos los días.
(X) Una vez por semana
() Una vez cada 15 días.
() Una vez al mes.
() De vez en cuando.

3. ¿Cuántos aguacates consume con respecto a la respuesta de la pregunta anterior?
..... 2 aguacates

4. ¿Por qué razones consume usted aguacate?
() Por salud.
(X) Por que le gusta.
() Por que combina con otros alimentos.
() Porque es bueno.
() Otros, especifique.....

5. ¿Cuántas personas viven habitualmente en su hogar?
..... 3 personas

6. ¿Dentro de su hogar cuántas personas consumen aguacate?
..... 3 personas

7. ¿Dónde compra usted el aguacate?
Tiendas (X) Supermercados ()
Mercado Mayorista () Otros () Especifique.....

Gracias por su colaboración

Fuente: elaboración propia.

Ilustración 58. Encuesta organoléptica para conservante natural al 0,1%


Fundación
Universidad de América

Encuestas
Características de muestras de guacamole del aguacate
variedad Hass (*Persea americana Mill*).

Encuesta No.2

Nombre del encuestado: Sonia López Zambrano **Edad:** 48 años

OBJETIVO: Determinar la concentración de extracto polifenólico que permitió la conservación de las características organolépticas del guacamole.

INSTRUCCIONES

- ✓ Enjuagar la boca antes de degustar la muestra.
- ✓ Servirse a degustar la muestra.
- ✓ Por favor califique a cada una de la muestra en los atributos
- ✓ Sensoriales descritos en base a la escala.

ATRIBUTOS

- ESCALA MUESTRAS (1, 2, 3, 4)

COLOR

1. Muy clara
2. Ligeramente clara
3. Característico
4. Ligeramente verde
5. Muy verde

OLOR

1. Nada perceptible
2. Poco Perceptible
3. Ligeramente Perceptible
4. Perceptible
5. Muy perceptible

SABOR

1. Muy desagradable
2. Desagradable
3. No agrada Ni Desagrada
4. Agradable
5. Muy agradable

TEXTURA

1. Poco líquida
2. Líquida
3. Normal
4. Consistente
5. Muy consistente

ACEPTABILIDAD

1. Muy desagradable
2. Desagradable
3. No agrada Ni Desagrada
4. Agradable
5. Muy agradable

Conservante 0,1%
Natural

Gracias por su colaboración

Fuente: elaboración propia.

Ilustración 59. Encuesta organoléptica para conservante natural al 0,3%


Fundación
Universidad de América

Encuestas
Características de muestras de guacamole del aguacate
variedad Hass (*Persea americana Mill*).

Encuesta No.2

Nombre del encuestado: Sonia López Zambrano **Edad:** 48 años

OBJETIVO: Determinar la concentración de extracto polifenólico que permitió la conservación de las características organolépticas del guacamole.

INSTRUCCIONES

- ✓ Enjuagar la boca antes de degustar la muestra.
- ✓ Sírvese a degustar la muestra.
- ✓ Por favor califique a cada una de la muestra en los atributos
- ✓ Sensoriales descritos en base a la escala.

ATRIBUTOS

- ESCALA MUESTRAS (1, 2, 3, 4)

COLOR

1. Muy clara
2. Ligeramente clara
3. Característico
4. Ligeramente verde
5. Muy verde

OLOR

1. Nada perceptible
2. Poco Perceptible
3. Ligeramente Perceptible
4. Perceptible
5. Muy perceptible

SABOR

1. Muy desagradable
2. Desagradable
3. No agrada Ni Desagrada
4. Agradable
5. Muy agradable

TEXTURA

1. Poco líquida
2. Líquida
3. Normal
4. Consistente
5. Muy consistente

ACEPTABILIDAD

1. Muy desagradable
2. Desagradable
3. No agrada Ni Desagrada
4. Agradable
5. Muy agradable

Conservante 0,3%
Natural

Gracias por su colaboración

Fuente: elaboración propia.

Ilustración 60. Encuesta organoléptica para conservante natural al 0,5%


Fundación
Universidad de América

Encuestas
Características de muestras de guacamole del aguacate
variedad Hass (*Persea americana Mill*).

Encuesta No.2

Nombre del encuestado: Sonia López Zambrano **Edad:** 48 años

OBJETIVO: Determinar la concentración de extracto polifenólico que permitió la conservación de las características organolépticas del guacamole.

INSTRUCCIONES

- ✓ Enjuagar la boca antes de degustar la muestra.
- ✓ Sírvase a degustar la muestra.
- ✓ Por favor califique a cada una de la muestra en los atributos
- ✓ Sensoriales descritos en base a la escala.

ATRIBUTOS

- ESCALA MUESTRAS (1, 2, 3, 4)

COLOR

- 1. Muy clara
- 2. Ligeramente clara
- 3. Característico
- 4. Ligeramente verde
- 5. Muy verde

OLOR

- 1. Nada perceptible
- 2. Poco Perceptible
- 3. Ligeramente Perceptible
- 4. Perceptible
- 5. Muy perceptible

SABOR

- 1. Muy desagradable
- 2. Desagradable
- 3. No agrada Ni Desagrada
- 4. Agradable
- 5. Muy agradable

TEXTURA

- 1. Poco líquida
- 2. Líquida
- 3. Normal
- 4. Consistente
- 5. Muy consistente

ACEPTABILIDAD

- 1. Muy desagradable
- 2. Desagradable
- 3. No agrada Ni Desagrada
- 4. Agradable
- 5. Muy agradable

Gracias por su colaboración

Conservante 0,5%
Natural

Fuente: elaboración propia.

Ilustración 61. Encuesta organoléptica para ácido cítrico al 0,1%


Fundación
Universidad de América

Encuestas
Características de muestras de guacamole del aguacate
variedad Hass (*Persea americana Mill*).

Encuesta No.2

Nombre del encuestado: Sonia López Zambrano **Edad:** 48 años

OBJETIVO: Determinar la concentración de extracto polifenólico que permitió la conservación de las características organolépticas del guacamole.

INSTRUCCIONES

- ✓ Enjuagar la boca antes de degustar la muestra.
- ✓ Servirse a degustar la muestra.
- ✓ Por favor califique a cada una de la muestra en los atributos
- ✓ Sensoriales descritos en base a la escala.

ATRIBUTOS

- ESCALA MUESTRAS (1, 2, 3, 4)

COLOR

1. Muy clara
2. Ligeramente clara
3. Característico
4. Ligeramente verde
5. Muy verde

OLOR

1. Nada perceptible
2. Poco Perceptible
3. Ligeramente Perceptible
4. Perceptible
5. Muy perceptible

SABOR

1. Muy desagradable
2. Desagradable
3. No agrada Ni Desagrada
4. Agradable
5. Muy agradable

TEXTURA

1. Poco líquida
2. Líquida
3. Normal
4. Consistente
5. Muy consistente

ACEPTABILIDAD

1. Muy desagradable
2. Desagradable
3. No agrada Ni Desagrada
4. Agradable
5. Muy agradable

Ácido cítrico 0,1%

Gracias por su colaboración

Fuente: elaboración propia.

Ilustración 62. Encuesta organoléptica para ácido cítrico al 0,3%


Fundación
Universidad de América

Encuestas
Características de muestras de guacamole del aguacate
variedad Hass (*Persea americana Mill*).

Encuesta No.2

Nombre del encuestado: Sonia López Zambrano **Edad:** 48 años

OBJETIVO: Determinar la concentración de extracto polifenólico que permitió la conservación de las características organolépticas del guacamole.

INSTRUCCIONES

- ✓ Enjuagar la boca antes de degustar la muestra.
- ✓ Sírvese a degustar la muestra.
- ✓ Por favor califique a cada una de la muestra en los atributos
- ✓ Sensoriales descritos en base a la escala.

ATRIBUTOS

- ESCALA MUESTRAS (1, 2, 3, 4)

COLOR

1. Muy clara
2. Ligeramente clara
3. Característico
4. Ligeramente verde
5. Muy verde

OLOR

1. Nada perceptible
2. Poco Perceptible
3. Ligeramente Perceptible
4. Perceptible
5. Muy perceptible

SABOR

1. Muy desagradable
2. Desagradable
3. No agrada Ni Desagrada
4. Agradable
5. Muy agradable

TEXTURA

1. Poco líquida
2. Líquida
3. Normal
4. Consistente
5. Muy consistente

ACEPTABILIDAD

1. Muy desagradable
2. Desagradable
3. No agrada Ni Desagrada
4. Agradable
5. Muy agradable

Ácido Cítrico 0,3%

Gracias por su colaboración

Fuente: elaboración propia.

Ilustración 63. Encuesta organoléptica para ácido cítrico al 0,5%


Fundación
Universidad de América

Encuestas
Características de muestras de guacamole del aguacate
variedad Hass (*Persea americana Mill*).

Encuesta No.2

Nombre del encuestado: *Sonia López Zambono* Edad: *48 años*

OBJETIVO: Determinar la concentración de extracto polifenólico que permitió la conservación de las características organolépticas del guacamole.

INSTRUCCIONES

- ✓ Enjuagar la boca antes de degustar la muestra.
- ✓ Sírvese a degustar la muestra.
- ✓ Por favor califique a cada una de la muestra en los atributos
- ✓ Sensoriales descritos en base a la escala.

ATRIBUTOS

- ESCALA MUESTRAS (1, 2, 3, 4)

COLOR

1. Muy clara
2. Ligeramente clara
3. Característico
4. Ligeramente verde
5. Muy verde

OLOR

1. Nada perceptible
2. Poco Perceptible
3. Ligeramente Perceptible
4. Perceptible
5. Muy perceptible

SABOR

1. Muy desagradable
2. Desagradable
3. No agrada Ni Desagrada
4. Agradable
5. Muy agradable

TEXTURA

1. Poco líquida
2. Líquida
3. Normal
4. Consistente
5. Muy consistente

ACEPTABILIDAD

1. Muy desagradable
2. Desagradable
3. No agrada Ni Desagrada
4. Agradable
5. Muy agradable

Ácido cítrico 0,5%

Gracias por su colaboración

Fuente: elaboración propia.

Tabla 42. Tabulación de datos de la encuesta No.1

Nombre	Años	Frecuencia de consumo	Cantidad de aguacates	Adquisición de aguacate
Sonia López Zambrano	48	Una vez por semana	2	Tiendas
Angelica Osorio	26	Una vez cada 15 días	1	Supermercados
Carolina Perdomo	33	Una vez por semana	1	Tiendas
Mauricio Rodríguez Cardozo	52	De vez en cuando	2	Supermercados
Nichole Amaya	24	Una vez al mes	2	Tiendas
Carlos Alberto Guerrero	29	Una vez por semana	1	Tiendas
Camilo Enrique Rico	35	Una vez al mes	1	Tiendas
Erika Ramírez	26	Una vez cada 15 días	2	Supermercados
Daniel Cuchigay	25	Una vez por semana	1	Tiendas
Nicolas Huertas	27	Una vez por semana	1	Supermercados
Orlanda Rodríguez	74	Una vez al mes	2	Tiendas
Antonio Garzón	76	Una vez al mes	2	Tiendas
Sebastián Arismendi	25	Una vez cada 15 días	1	Supermercados
Francisco Restrepo	26	Una vez al mes	1	Tiendas
Iván Salazar	31	Una vez al mes	2	Supermercados
Ana María Gómez	39	De vez en cuando	2	Tiendas
Israel Alejo	28	De vez en cuando	2	Tiendas
Rosario Ramírez	79	Una vez cada 15 días	3	Finca
Angelica Lara	22	Una vez por semana	2	Tiendas
Camila Castro	26	Una vez cada 15 días	2	Supermercados

Fuente: elaboración propia.

Tabla 43. Tratamiento 0,1% conservante natural.

		Prueba organoléptica (Temperatura 4°C, 0.1% de conservante)				
Nombre	Años	Color	Olor	Sabor	Textura	Aceptabilidad
Sonia López Zambrano	48	Característico	Nada perceptible	No agrada ni desagrada	Normal	Agradable
Angelica Osorio	26	Característico	Poco perceptible	No agrada ni desagrada	Normal	No agrada ni desagrada
Carolina Perdomo	33	Característico	Nada perceptible	Desagradable	Consistente	No agrada ni desagrada
Mauricio Rodríguez Cardozo	52	Característico	Nada perceptible	Desagradable	Consistente	No agrada ni desagrada
Nichole Amaya	24	Característico	Poco perceptible	No agrada ni desagrada	Consistente	No agrada ni desagrada
Carlos Alberto Guerrero	29	Ligeramente verde	Nada perceptible	No agrada ni desagrada	Normal	No agrada ni desagrada
Camilo Enrique Rico	35	Ligeramente verde	Nada perceptible	No agrada ni desagrada	Normal	Agradable
Erika Ramírez	26	Característico	Poco perceptible	No agrada ni desagrada	Normal	Agradable
Daniel Cuchigay	25	Característico	Poco perceptible	No agrada ni desagrada	Normal	Agradable
Nicolas Huertas	27	Característico	Ligeramente perceptible	Desagradable	Normal	No agrada ni desagrada
Orlanda Rodríguez	74	Ligeramente verde	Nada perceptible	No agrada ni desagrada	Consistente	No agrada ni desagrada
Antonio Garzón	76	Característico	Ligeramente perceptible	No agrada ni desagrada	Consistente	No agrada ni desagrada
Sebastián Arismendi	25	Ligeramente verde	Poco perceptible	Desagradable	Consistente	No agrada ni desagrada
Francisco Restrepo	26	Característico	Poco perceptible	No agrada ni desagrada	Normal	Agradable
Iván Salazar	31	Ligeramente verde	Nada perceptible	No agrada ni desagrada	Normal	No agrada ni desagrada
Ana María Gómez	39	Característico	Ligeramente perceptible	No agrada ni desagrada	Normal	No agrada ni desagrada
Israel Alejo	28	Ligeramente verde	Nada perceptible	No agrada ni desagrada	Consistente	Agradable
Rosario Ramírez	79	Característico	Nada perceptible	No agrada ni desagrada	Normal	No agrada ni desagrada
Angelica Lara	22	Ligeramente verde	Poco perceptible	No agrada ni desagrada	Consistente	Agradable
Camila Castro	26	Característico	Poco perceptible	No agrada ni desagrada	Normal	Agradable

Tabla 44. Tratamiento 0,3% conservante natural.

Nombre	Años	Color	Olor	Sabor	Textura	Aceptabilidad
Sonia López Zambrano	48	Ligeramente verde	Perceptible	No agrada ni desagrada	Poco líquida	No agrada ni desagrada
Angelica Osorio	26	Ligeramente clara	Poco perceptible	No agrada ni desagrada	Normal	No agrada ni desagrada
Carolina Perdomo	33	Ligeramente clara	Perceptible	Desagradable	Poco líquida	Desagradable
Mauricio Rodríguez Cardozo	52	Ligeramente verde	Perceptible	Desagradable	Normal	Desagradable
Nichole Amaya	24	Ligeramente verde	Perceptible	Desagradable	Normal	Desagradable
Carlos Alberto Guerrero	29	Ligeramente clara	Perceptible	Desagradable	Poco líquida	Desagradable
Camilo Enrique Rico	35	Ligeramente verde	Perceptible	Desagradable	Poco líquida	Desagradable
Erika Ramírez	26	Ligeramente clara	Poco perceptible	Desagradable	Normal	No agrada ni desagrada
Daniel Cuchigay	25	Ligeramente verde	Poco perceptible	No agrada ni desagrada	Normal	Desagradable
Nicolas Huertas	27	Ligeramente verde	Perceptible	Desagradable	Poco líquida	Desagradable
Orlanda Rodríguez	74	Ligeramente verde	Perceptible	Desagradable	Normal	No agrada ni desagrada
Antonio Garzón	76	Característico	Ligeramente perceptible	No agrada ni desagrada	Normal	No agrada ni desagrada
Sebastián Arismendi	25	Ligeramente verde	Perceptible	Desagradable	Normal	Desagradable
Francisco Restrepo	26	Ligeramente verde	Perceptible	No agrada ni desagrada	Normal	Desagradable
Iván Salazar	31	Ligeramente verde	Ligeramente perceptible	Desagradable	Normal	Desagradable
Ana María Gómez	39	Ligeramente verde	Ligeramente perceptible	No agrada ni desagrada	Normal	No agrada ni desagrada
Israel Alejo	28	Ligeramente verde	Ligeramente perceptible	Desagradable	Poco líquida	Desagradable
Rosario Ramírez	79	Ligeramente verde	Ligeramente perceptible	No agrada ni desagrada	Poco líquida	No agrada ni desagrada
Angelica Lara	22	Ligeramente verde	Ligeramente perceptible	Desagradable	Normal	Desagradable
Camila Castro	26	Ligeramente verde	Ligeramente perceptible	No agrada ni desagrada	Normal	No agrada ni desagrada

Fuente: elaboración propia.

Tabla 45. Tratamiento 0,5% conservante natural.

Prueba organoléptica (Temperatura 4°C, 0.5% de conservante)						
Nombre	Años	Color	Olor	Sabor	Textura	Aceptabilidad
Sonia López Zambrano	48	Ligeramente clara	Muy perceptible	Desagradable	Líquida	Desagradable
Angelica Osorio	26	Ligeramente verde	Perceptible	Desagradable	Poco líquida	Desagradable
Carolina Perdomo	33	Ligeramente verde	Perceptible	Desagradable	Normal	Desagradable
Mauricio Rodríguez Cardozo	52	Ligeramente clara	Perceptible	Desagradable	Normal	Desagradable
Nichole Amaya	24	Ligeramente verde	Perceptible	Desagradable	Normal	Desagradable
Carlos Alberto Guerrero	29	Ligeramente verde	Perceptible	No agrada ni desagrada	Líquida	No agrada ni desagrada
Camilo Enrique Rico	35	Ligeramente verde	Muy perceptible	Desagradable	Poco líquida	Desagradable
Erika Ramírez	26	Ligeramente verde	Muy perceptible	Desagradable	Poco líquida	Desagradable
Daniel Cuchigay	25	Característico	Perceptible	Desagradable	Poco líquida	Desagradable
Nicolas Huertas	27	Característico	Perceptible	Desagradable	Poco líquida	Desagradable
Orlanda Rodríguez	74	Ligeramente verde	Perceptible	Desagradable	Poco líquida	Desagradable
Antonio Garzón	76	Ligeramente verde	Perceptible	Desagradable	Normal	Desagradable
Sebastián Arismendi	25	Ligeramente verde	Perceptible	Desagradable	Poco líquida	Desagradable
Francisco Restrepo	26	Característico	Muy perceptible	Desagradable	Poco líquida	No agrada ni desagrada
Iván Salazar	31	Ligeramente verde	Perceptible	No agrada ni desagrada	Poco líquida	No agrada ni desagrada
Ana María Gómez	39	Característico	Muy perceptible	No agrada ni desagrada	Poco líquida	Desagradable
Israel Alejo	28	Ligeramente verde	Perceptible	Desagradable	Normal	No agrada ni desagrada
Rosario Ramírez	79	Ligeramente verde	Perceptible	Desagradable	Normal	Desagradable
Angelica Lara	22	Ligeramente verde	Perceptible	Desagradable	Poco líquida	Desagradable
Camila Castro	26	Característico	Perceptible	No agrada ni desagrada	Poco líquida	No agrada ni desagrada

Fuente: elaboración propia.

Tabla 46. Tratamiento 0,1% ácido cítrico.

Prueba organoléptica (Temperatura 4°C, 0.1% de ácido cítrico)						
Nombre	Años	Color	Olor	Sabor	Textura	Aceptabilidad
Sonia López Zambrano	48	Característico	Nada perceptible	Agradable	Consistente	Agradable
Angelica Osorio	26	Característico	Nada perceptible	Agradable	Normal	Agradable
Carolina Perdomo	33	Característico	Nada perceptible	Agradable	Normal	Agradable
Mauricio Rodríguez Cardozo	52	Característico	Nada perceptible	Agradable	Normal	Agradable
Nichole Amaya	24	Característico	Nada perceptible	Agradable	Normal	Agradable
Carlos Alberto Guerrero	29	Característico	Nada perceptible	Agradable	Consistente	Agradable
Camilo Enrique Rico	35	Característico	Nada perceptible	No agrada ni desagrada	Normal	No agrada ni desagrada
Erika Ramírez	26	Característico	Poco perceptible	No agrada ni desagrada	Consistente	No agrada ni desagrada
Daniel Cuchigay	25	Característico	Poco perceptible	No agrada ni desagrada	Normal	No agrada ni desagrada
Nicolas Huertas	27	Característico	Poco perceptible	No agrada ni desagrada	Normal	No agrada ni desagrada
Orlanda Rodríguez	74	Característico	Nada perceptible	Agradable	Normal	Agradable
Antonio Garzón	76	Característico	Nada perceptible	Agradable	Normal	Agradable
Sebastián Arismendi	25	Ligeramente verde	Poco perceptible	No agrada ni desagrada	Consistente	Agradable
Francisco Restrepo	26	Ligeramente verde	Nada perceptible	Agradable	Consistente	Agradable
Iván Salazar	31	Ligeramente verde	Nada perceptible	No agrada ni desagrada	Consistente	Agradable
Ana María Gómez	39	Ligeramente verde	Poco perceptible	Agradable	Consistente	Agradable
Israel Alejo	28	Característico	Nada perceptible	Agradable	Consistente	Agradable
Rosario Ramírez	79	Característico	Nada perceptible	No agrada ni desagrada	Normal	No agrada ni desagrada
Angelica Lara	22	Característico	Nada perceptible	No agrada ni desagrada	Consistente	No agrada ni desagrada
Camila Castro	26	Característico	Nada perceptible	No agrada ni desagrada	Consistente	No agrada ni desagrada

Fuente: elaboración propia.

Tabla 47. Tratamiento 0,3% ácido cítrico.

Prueba organoléptica (Temperatura 4°C, 0.3% de ácido cítrico)						
Nombre	Años	Color	Olor	Sabor	Textura	Aceptabilidad
Sonia López Zambrano	48	Característico	Perceptible	No agrada ni desagrada	Normal	No agrada ni desagrada
Angelica Osorio	26	Ligeramente clara	Poco perceptible	No agrada ni desagrada	Normal	No agrada ni desagrada
Carolina Perdomo	33	Característico	Perceptible	No agrada ni desagrada	Normal	No agrada ni desagrada
Mauricio Rodríguez Cardozo	52	Ligeramente verde	Perceptible	Desagradable	Poco líquida	Desagradable
Nichole Amaya	24	Ligeramente verde	Perceptible	No agrada ni desagrada	Poco líquida	No agrada ni desagrada
Carlos Alberto Guerrero	29	Ligeramente clara	Perceptible	Desagradable	Poco líquida	Desagradable
Camilo Enrique Rico	35	Característico	Perceptible	No agrada ni desagrada	Normal	No agrada ni desagrada
Erika Ramírez	26	Característico	Poco perceptible	Desagradable	Poco líquida	Desagradable
Daniel Cuchigay	25	Característico	Poco perceptible	Desagradable	Normal	No agrada ni desagrada
Nicolas Huertas	27	Ligeramente verde	Perceptible	No agrada ni desagrada	Poco líquida	No agrada ni desagrada
Orlanda Rodríguez	74	Ligeramente verde	Perceptible	Desagradable	Normal	Desagradable
Antonio Garzón	76	Ligeramente verde	Ligeramente perceptible	Desagradable	Poco líquida	No agrada ni desagrada
Sebastián Arismendi	25	Característico	Perceptible	No agrada ni desagrada	Poco líquida	No agrada ni desagrada
Francisco Restrepo	26	Característico	Perceptible	No agrada ni desagrada	Normal	No agrada ni desagrada
Iván Salazar	31	Característico	Ligeramente perceptible	No agrada ni desagrada	Poco líquida	Desagradable
Ana María Gómez	39	Característico	Ligeramente perceptible	Desagradable	Normal	Desagradable
Israel Alejo	28	Característico	Ligeramente perceptible	Desagradable	Normal	Desagradable
Rosario Ramírez	79	Ligeramente verde	Ligeramente perceptible	No agrada ni desagrada	Normal	No agrada ni desagrada
Angelica Lara	22	Ligeramente verde	Ligeramente perceptible	No agrada ni desagrada	Poco líquida	Desagradable
Camila Castro	26	Característico	Ligeramente perceptible	No agrada ni desagrada	Normal	No agrada ni desagrada

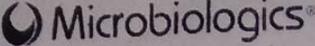
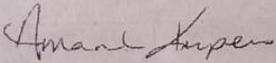
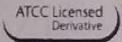
Fuente: elaboración propia.

Tabla 48. Tratamiento 0,5% ácido cítrico.

Prueba organoléptica (Temperatura 4°C, 0.5% de ácido cítrico)						
Nombre	Años	Color	Olor	Sabor	Textura	Aceptabilidad
Sonia López Zambrano	48	Ligeramente verde	Perceptible	Desagradable	Líquida	Desagradable
Angelica Osorio	26	Ligeramente verde	Muy perceptible	Desagradable	Poco líquida	Desagradable
Carolina Perdomo	33	Ligeramente verde	Muy perceptible	Desagradable	Normal	Desagradable
Mauricio Rodríguez Cardozo	52	Ligeramente clara	Muy perceptible	Desagradable	Normal	Desagradable
Nichole Amaya	24	Ligeramente clara	Perceptible	Desagradable	Normal	Desagradable
Carlos Alberto Guerrero	29	Ligeramente clara	Muy perceptible	No agrada ni desagrada	Líquida	No agrada ni desagrada
Camilo Enrique Rico	35	Ligeramente clara	Perceptible	Desagradable	Poco líquida	Desagradable
Erika Ramírez	26	Ligeramente verde	Perceptible	Desagradable	Poco líquida	Desagradable
Daniel Cuchigay	25	Ligeramente verde	Muy perceptible	Desagradable	Poco líquida	Desagradable
Nicolas Huertas	27	Ligeramente verde	Perceptible	Desagradable	Poco líquida	Desagradable
Orlanda Rodríguez	74	Ligeramente clara	Muy perceptible	Desagradable	Poco líquida	Desagradable
Antonio Garzón	76	Ligeramente clara	Perceptible	Desagradable	Normal	Desagradable
Sebastián Arismendi	25	Ligeramente verde	Perceptible	Desagradable	Poco líquida	Desagradable
Francisco Restrepo	26	Ligeramente verde	Perceptible	Desagradable	Poco líquida	No agrada ni desagrada
Iván Salazar	31	Ligeramente verde	Muy perceptible	No agrada ni desagrada	Poco líquida	No agrada ni desagrada
Ana María Gómez	39	Ligeramente clara	Perceptible	No agrada ni desagrada	Poco líquida	Desagradable
Israel Alejo	28	Ligeramente clara	Muy perceptible	Desagradable	Normal	No agrada ni desagrada
Rosario Ramírez	79	Ligeramente verde	Muy perceptible	Desagradable	Normal	Desagradable
Angelica Lara	22	Ligeramente clara	Perceptible	Desagradable	Poco líquida	Desagradable
Camila Castro	26	Ligeramente verde	Muy perceptible	No agrada ni desagrada	Poco líquida	No agrada ni desagrada

Fuente: elaboración propia.

Ilustración 64. Ficha técnica de la bacteria *Escherichia coli*

	
Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release	
Specifications Microorganism Name: <i>Escherichia coli</i> Catalog Number: 0335 Lot Number: 335-389** Reference Number: ATCC® 25922™* Purity: Pure Passage from Reference: 3	Expiration Date: 2020/7/31 Release Information: Quality Control Technologist: Christine Condon Release Date: 2018/8/16
Performance	
Macroscopic Features: 2 colony types, both are gray & beta hemolytic; one is circular to irregular, convex, slightly erose edge & smooth; other is larger, irregular, low convex, erose edge & rough	Medium: SBAP
Microscopic Features: Gram negative straight rod	Method: Gram Stain (1)
ID System: Vitek GN (1) See attached ID System results document.	Other Features/ Challenges: Results (1) Oxidase (Kovacs): negative Beta-glucuronidase (E. coli Broth w/MUG): positive (1) Ampicillin (10 mcg - Disk Susceptibility): 16 - 22 mm (1) Gentamicin (10 mcg - Disk Susceptibility): 19 - 26 mm (1) SXT (1.25/23.75 mcg - Disk Susceptibility): 23 - 29 mm
 Amanda Kuperus Quality Control Manager AUTHORIZED SIGNATURE	
<small>**Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the product label and packing slip are merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.</small>	
<small>Note for Vitek®: Although the Vitek® panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.</small>	
<small>1. Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.</small>	
<small>Individual products are traceable to a recognized culture collection.</small>	
 ACCREDITED REFERENCE MATERIAL PRODUCER CERT #2655.02	<small>(1) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC Microbiologics, Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.</small>
	<small>(1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025:2005.</small>
 ACCREDITED TESTING CERT #2655.01	
<small>© 2012 Microbiologics, Inc. All Rights Reserved. 200 Cooper Avenue North Saint Cloud, MN 56303</small>	
<small>Page 1 of 1</small>	<small>DOC. 286</small>

Fuente: elaboración propia.

Anexo D.COTIZACIÓN EQUIPOS Y COSTOS DE SERVICIOS PÚBLICOS.


Global trade starts here.™

Productos ▾  NEW

Categorías ▾ | Listo para nave | Exhibiciones comerciales | Los servicios de ▾ | Membresía ▾ | Ayuda ▾



Automático fruta fresca lavadora jujube lavado de precio de la máquina

FOB Referencia Precio: [Consiga El Último Precio](#)

>=2 Set/s

US\$ 3.600,00

Lead Time:

Cantidad(Set/s)	1 - 1	>1
Hora del Est.(días)	30	Negociable

Pago:   [Online Bank Payment](#) [T/T](#) [Pay Later](#) [WesternUnion\WU](#) 


Global trade starts here.™

Products ▾  NEW

Categories ▾ | Ready to Ship | Trade Shows | Services ▾ | Membership ▾ | Help ▾



Small Size Ball Mill Molino De Bolas For Ore Grinding For Mixico Mining Industry

FOB Reference Price: [Get Latest Price](#)

US1,900.00 / Sets 1 Set/Sets Discount for 2 sets above Small Ball Mill. (Min. Order)

Model Number:

Lead Time:

Quantity(Sets)	1 - 1	>1
Est. Time(days)	5	Negotiable

Customization: [Customized logo \(Min. Order: 10 Sets\)](#)
[Customized packaging \(Min. Order: 10 Sets\)](#) [More ▾](#)

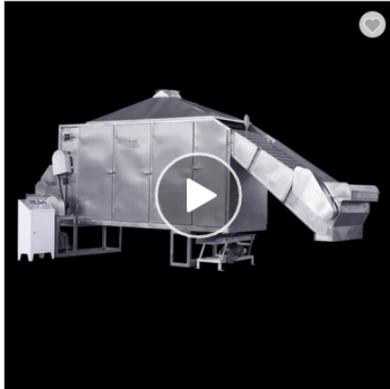
 **Trade Assurance** protect your orders from payment to delivery

Payments:   [Online Bank Payment](#) [T/T](#) [Pay Later](#) [WesternUnion\WU](#) 

[Alibaba.com Logistics](#) [Inspection Solutions](#)

[View larger image](#)





🔍 Ver imagen más grande



Fácil operación de alimentos y frutas deshidratador dring máquina

FOB Referencia Precio: [Consiga El Último Precio](#)

US\$ 6.000,00 / Set | 1 Set/s (Pedido mínimo)

Pago: [Online Bank Payment](#) [T/T](#) [Pay Later](#) [WesternUnion\WU](#)



🔍 View larger image



Small Size Ball Mill Molino De Bolas For Ore Grinding For Mixico Mining Industry

FOB Reference Price: [Get Latest Price](#)

US\$1,900.00 / Sets 1 Set/Sets Discount for 2 sets above Small Ball Mill. (Min. Order)

Model Number:

Lead Time:	Quantity(Sets)	1 - 1	>1
	Est. Time(days)	5	Negotiable

Customization: [Customized logo \(Min. Order: 10 Sets\)](#)
[Customized packaging \(Min. Order: 10 Sets\)](#) More ▾

Trade Assurance protect your orders from payment to delivery

Payments: [Online Bank Payment](#) [T/T](#) [Pay Later](#) [WesternUnion\WU](#)

Alibaba.com Logistics | Inspection Solutions



View larger image

molino pulverizador

FOB Reference Price: [Get Latest Price](#)

US\$1,000.00 / Sets | 1 Set/Sets (Min. Order)

US \$100 OFF Order more than US \$10000 [Get Coupon](#) ▾

Trade Assurance protect your orders from payment to delivery

Payments: **VISA** **Online Bank Payment** **T/T** **Pay Later** **WesternUnion** **WU**

Alibaba.com Logistics · Inspection Solutions



De acero inoxidable de filtración tanque

FOB Referencia Precio: [Consiga El Último Precio](#)

US\$ 1.000,00 / Set | 1 Set/s (Pedido mínimo)

Número de Mod...

Lead Time:

Cantidad(Set/s)	1 - 1	>1
Hora del Est.(días)	35	Negociable

Garantía comercial Para proteger sus pedidos del pago a la entrega

Pago: **VISA** **Online Bank Payment** **T/T** **Pay Later** **WesternUnion** **WU**

Logística de Alibaba.com · Soluciones de inspección · Vista de producción



Santai modelo 630 Placa de cámara de laboratorio de Tornillo Prensa de filtro

FOB Referencia Precio: [Consiga El Último Precio](#)

US\$ 4.900,00 / Set | 1 Set/s (Pedido mínimo)

Capacidad de Pr...

Número de Mod... [All 12 Options](#)

Lead Time:

Cantidad(Set/s)	1 - 1	2 - 10	>10
Hora del Est.(días)	7	15	Negociable

Garantía comercial Para proteger sus pedidos del pago a la entrega

Pago: [VISA](#) [MasterCard](#) [Online Bank Payment](#) [T/T](#) [Pay Later](#) [WesternUnion](#) [WU](#) [Alibaba.com](#)

Logística de Alibaba.com - Soluciones de inspección

Conectando...



Ver imagen más grande

Industrial de equipo de secado de tomate en polvo/polvo de café instantáneo en polvo de leche en polvo

FOB Referencia Precio: [Consiga El Último Precio](#)

US\$ 5.000,00 / Set | 1 Set/s (Pedido mínimo)

Número de Mod... LPG

Lead Time:

Cantidad(Set/s)	1 - 1	>1
Hora del Est.(días)	30	Negociable

Garantía comercial Para proteger sus pedidos del pago a la entrega

Pago: **VISA** **Online Bank Payment** **T/T** **Pay Later** **WesternUnion** **WU** **Alibaba.com** ▾

Logística de Alibaba.com · Soluciones de inspección



Ver imagen más grande



Qn alta eficiencia leche tomate vacío evaporador industrial aspiradora industrial máquina de vacío del evaporador

FOB Referencia Precio: [Consiga El Último Precio](#)

US\$ 1.000,00 / Set | 1 Set/s Evaporador al vacío
(Pedido mínimo)

Garantía comercial Para proteger sus pedidos del pago a la entrega

Pago: **VISA** **Online Bank Payment** **T/T** **Pay Later** **WesternUnion** **WU** **Alibaba.com** ▾

Logística de Alibaba.com · Soluciones de inspección · Vista de producción

KOSUN FLUID



Ver imagen más grande



Vertical sanitarias de grado alimento bebida tanque de almacenamiento de la leche industrial de acero inoxidable fluido de agua y tanque de almacenamiento de

FOB Referencia Precio: [Consiga El Último Precio](#)

US\$ 500,00 / Set | 1 Set/s (Pedido mínimo)

Número de Mod...

Garantía comercial Para proteger sus pedidos del pago a la entrega

Pago: **VISA** **Online Bank Payment** **T/T** **Pay Later** **WesternUnion/WU**

Logística de Alibaba.com · Soluciones de inspección

También puede interesarte: exploradoras moto - cabeceros pantallas - lujos carros - exosto moto - espejo retrovisor

Volver al listado | [Accesorios para Vehículos](#) > [Repuestos para Motos](#) > [Motor](#) > [Cilindros](#)

[Compartir](#) | [Vender uno igual](#)



Nuevo

Turbo Torch 09160028
Nt40 Cilindro De Nitrógeno

\$ 1.345.900

36 cuotas de \$ 37.386



Más información

Envío gratis a nivel nacional

Conoce los tiempos y las formas de envío.

[Calcular cuándo llega](#)

¡Único disponible!

Comprar

Anexo E.SERVICIOS PUBLICOS (UTILITIES)



DIRECCION DE APOYO COMERCIAL
GERENCIA CORPORATIVA SERVICIO AL CLIENTE
TARIFAS CARGO FIJO Y CON SUMO

ESTRUCTURA TARIFARIA PARA LOS SUSCRIPTORES ATENDIDOS EN BOGOTÁ D. C. POR LA EMPRESA DE ACUEDUCTO TARIFAS ACUEDUCTO AÑO 2019

CIFRAS EN \$/Comuna

R	CARGO FIJO \$/Suscritor/2 meses	dic-2018	ene-2019	feb-2019	mar-2019	abr-2019	may-2019	jun-2019	jul-2019	ago-2019	sep-2019	oct-2019	nov-2019	dic-2019
E	Estrato 1	3.881,78	3.891,76	3.881,76	4.009,30	4.009,30	4.009,30	4.009,30	4.009,30	4.009,30	4.009,30	4.009,30	4.009,30	4.009,30
	Estrato 2	7.783,52	7.783,52	7.783,52	8.018,60	8.018,60	8.018,60	8.018,60	8.018,60	8.018,60	8.018,60	8.018,60	8.018,60	8.018,60
	Estrato 3	11.029,68	11.029,68	11.029,68	11.369,68	11.369,68	11.369,68	11.369,68	11.369,68	11.369,68	11.369,68	11.369,68	11.369,68	11.369,68
	Estrato 4	12.972,54	12.972,54	12.972,54	13.364,32	13.364,32	13.364,32	13.364,32	13.364,32	13.364,32	13.364,32	13.364,32	13.364,32	13.364,32
	Estrato 5	29.058,48	29.058,48	29.058,48	29.936,08	29.936,08	29.936,08	29.936,08	29.936,08	29.936,08	29.936,08	29.936,08	29.936,08	29.936,08
	Estrato 6	35.544,76	35.544,76	35.544,76	36.618,24	36.618,24	36.618,24	36.618,24	36.618,24	36.618,24	36.618,24	36.618,24	36.618,24	36.618,24
D	CONSUMO BASICO l/m ³	760,15	760,15	760,15	783,00	783,00	783,00	783,00	783,00	783,00	783,00	783,00	783,00	783,00
E	Estrato 1	1.520,30	1.520,30	1.520,30	1.566,01	1.566,01	1.566,01	1.566,01	1.566,01	1.566,01	1.566,01	1.566,01	1.566,01	1.566,01
	Estrato 2	2.153,78	2.153,78	2.153,78	2.218,51	2.218,51	2.218,51	2.218,51	2.218,51	2.218,51	2.218,51	2.218,51	2.218,51	2.218,51
	Estrato 3	2.533,84	2.533,84	2.533,84	2.610,01	2.610,01	2.610,01	2.610,01	2.610,01	2.610,01	2.610,01	2.610,01	2.610,01	2.610,01
	Estrato 4	3.927,45	3.927,45	3.927,45	4.045,52	4.045,52	4.045,52	4.045,52	4.045,52	4.045,52	4.045,52	4.045,52	4.045,52	4.045,52
	Estrato 5	4.180,84	4.180,84	4.180,84	4.306,52	4.306,52	4.306,52	4.306,52	4.306,52	4.306,52	4.306,52	4.306,52	4.306,52	4.306,52
C	CONSUMO NO BASICO l/m ³	dic-2018	ene-2019	feb-2019	mar-2019	abr-2019	may-2019	jun-2019	jul-2019	ago-2019	sep-2019	oct-2019	nov-2019	dic-2019
	Estrato 1	2.533,84	2.533,84	2.533,84	2.610,01	2.610,01	2.610,01	2.610,01	2.610,01	2.610,01	2.610,01	2.610,01	2.610,01	2.610,01
	Estrato 2	2.533,84	2.533,84	2.533,84	2.610,01	2.610,01	2.610,01	2.610,01	2.610,01	2.610,01	2.610,01	2.610,01	2.610,01	2.610,01
	Estrato 3	2.533,84	2.533,84	2.533,84	2.610,01	2.610,01	2.610,01	2.610,01	2.610,01	2.610,01	2.610,01	2.610,01	2.610,01	2.610,01
	Estrato 4	2.533,84	2.533,84	2.533,84	2.610,01	2.610,01	2.610,01	2.610,01	2.610,01	2.610,01	2.610,01	2.610,01	2.610,01	2.610,01
	Estrato 5	3.927,45	3.927,45	3.927,45	4.045,52	4.045,52	4.045,52	4.045,52	4.045,52	4.045,52	4.045,52	4.045,52	4.045,52	4.045,52
	Estrato 6	4.180,84	4.180,84	4.180,84	4.306,52	4.306,52	4.306,52	4.306,52	4.306,52	4.306,52	4.306,52	4.306,52	4.306,52	4.306,52
	CARGO FIJO \$/Suscritor/2 meses	dic-2018	ene-2019	feb-2019	mar-2019	abr-2019	may-2019	jun-2019	jul-2019	ago-2019	sep-2019	oct-2019	nov-2019	dic-2019
	COMERCIAL	19.458,82	19.458,82	19.458,82	20.046,48	20.046,48	20.046,48	20.046,48	20.046,48	20.046,48	20.046,48	20.046,48	20.046,48	20.046,48
	INDUSTRIAL	16.864,30	16.864,30	16.864,30	17.373,62	17.373,62	17.373,62	17.373,62	17.373,62	17.373,62	17.373,62	17.373,62	17.373,62	17.373,62
	OFICIAL	12.972,54	12.972,54	12.972,54	13.364,32	13.364,32	13.364,32	13.364,32	13.364,32	13.364,32	13.364,32	13.364,32	13.364,32	13.364,32
	ESPECIAL	12.972,54	12.972,54	12.972,54	13.364,32	13.364,32	13.364,32	13.364,32	13.364,32	13.364,32	13.364,32	13.364,32	13.364,32	13.364,32
	CONSUMO l/m ³	dic-2018	ene-2019	feb-2019	mar-2019	abr-2019	may-2019	jun-2019	jul-2019	ago-2019	sep-2019	oct-2019	nov-2019	dic-2019
	COMERCIAL	3.800,76	3.800,76	3.800,76	3.915,02	3.915,02	3.915,02	3.915,02	3.915,02	3.915,02	3.915,02	3.915,02	3.915,02	3.915,02
	INDUSTRIAL	3.446,70	3.446,70	3.446,70	3.601,81	3.601,81	3.601,81	3.601,81	3.601,81	3.601,81	3.601,81	3.601,81	3.601,81	3.601,81
	OFICIAL	2.533,84	2.533,84	2.533,84	2.610,01	2.610,01	2.610,01	2.610,01	2.610,01	2.610,01	2.610,01	2.610,01	2.610,01	2.610,01
	ESPECIAL	2.533,84	2.533,84	2.533,84	2.610,01	2.610,01	2.610,01	2.610,01	2.610,01	2.610,01	2.610,01	2.610,01	2.610,01	2.610,01

fuente: direccion de apoyo comercial - gpoac@epac.com

Nota 1: En el evento en que la verificación del IPC, respecto al 28 de febrero de 2019, acumule una variación igual o superior al 3%, los costos de referencia y tarifas deberán ser actualizados (Artículo 125 de la Ley 142 de 1994 y Artículo 56 de la Resolución CRA 688 de 2014). Se excluye de la actualización por IPC los costos de referencia relacionados con el costo medio generado por tasas ambientales de acuerdo con el definido en el parágrafo 3 del artículo 59 de la Res. CRA 688 de 2014.

Nota 2: Los costos de referencia y las tarifas que se presentan a partir de marzo de 2019 tuvieron un incremento del 3,02%, teniendo en cuenta los términos de la Res. CRA 688 de 2014 art. 58.

TARIFAS DE ENERGÍA ELÉCTRICA (\$/kWh) REGULADAS POR LA COMISIÓN DE REGULACIÓN DE ENERGÍA Y GAS (CREG) ENERO DE 2019

SECTOR RESIDENCIAL NIVEL DE TENSION I			ÁREAS CONJUNTES NIVEL DE TENSION I				
ESTRATO (E)	RANGO DE CONSUMO (kWh-mes)	PROPIEDAD DE CODENSA (\$/kWh)	PROPIEDAD DEL CLIENTE (*) (\$/kWh)	PROPIEDAD COMPARTIDA (*) (\$/kWh)	MODALIDAD (Todo consumo)	PROPIEDAD DE CODENSA (\$/kWh)	PROPIEDAD DEL CLIENTE (*) (\$/kWh)
E1	0-CS (+)	206,8151	194,0016	201,4064	E1	509,5027	472,8135
	Más de CS	509,5027	472,8135	491,0581	E2	509,5027	472,8135
E2	0-CS (+)	261,0190	242,5020	251,7605	E3	509,5027	472,8135
	Más de CS	509,5027	472,8135	491,0581	E4	509,5027	472,8135
E3	0-CS (+)	433,0773	401,7215	417,3964	E5 y E6, Industrial y Comercial	611,4032	567,1362
	Más de CS	509,5027	472,8135	491,0581			
E4	Todo consumo	509,5027	472,8135	491,0581	Exenta de contribución	509,5027	472,8135
E5	Todo consumo	611,4032	567,1362	589,2697			
E6	Todo consumo	611,4032	567,1362	589,2697			

(+) CS: Consumo de Subsistencia

SECTOR NO RESIDENCIAL				SECTOR NO RESIDENCIAL			
		NIVEL 1 PROPIEDAD DE CODENSA (\$/kWh)	NIVEL 1 PROPIEDAD DEL CLIENTE (*) (\$/kWh)	NIVEL 1 PROPIEDAD COMPARTIDA (*) (\$/kWh)	NIVEL 2 (11.4 y 13.2 kV) (\$/kWh)	NIVEL 3 (34.5 kV) (\$/kWh)	NIVEL 4 (115 kV) (\$/kWh)
OFICIAL E INDUSTRIAL SIN CONTRIBUCIÓN	SENCILLA	509,5027	472,8135	491,0581	410,9079	379,7942	327,8950
	OPCIONES HORARIAS (**)	512,4647	475,5755	494,0201	413,3689	380,8450	327,9545
INDUSTRIAL Y COMERCIAL CON CONTRIBUCIÓN	SENCILLA	508,9222	472,0330	490,4776	410,3864	378,2139	330,1968
	OPCIONES HORARIAS (**)	614,9576	570,6906	589,2697	492,9695	455,7530	393,4620
INDUSTRIAL SIN CONTRIBUCIÓN	Fuera de Punta	610,7066	566,4396	592,6241	496,0427	457,0140	393,5454
	Nocturna	511,7746	474,8954	493,3300	492,4637	453,9767	396,2362
INDUSTRIAL CON CONTRIBUCIÓN	Doble Horaria	509,2724	472,3832	490,8278	412,8441	379,2650	327,8950
	Doble Horaria	614,1295	569,8625	591,9960	495,4129	458,2319	396,2362

