

POSGRADO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA AGROALIMENTARIA

# APROVECHAMIENTO INTEGRAL DE LOS FRUTOS DE Persea schiedeana Nees

Que como requisito parcial para obtener el grado de:

**MAESTRO EN CIENCIAS** 

EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA AGROALIMENTA

Presenta:

DIPACCION GENERAL ACADEMICA
DEPTIO: DE SERVICIOS ESCOLARES

ANALLELY LÓPEZ YERENA OFICINA DE EXAMENES PROFESIONALES

Bajo la supervisión de: Dr. JUAN GUILLERMO CRUZ CASTILLO



Chapingo, Estado de México, septiembre de 2016

# APROVECHAMIENTO INTEGRAL DE LOS FRUTOS DE Persea schiedeana Nees

Tesis realizada por **Anallely López Yerena** bajo la supervisión del Comité Asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

# MAESTRO EN CIENCIAS

# EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA AGROALIMENTARIA

Director	Dr. Juan Guillermo Cruz Castillo
	Dr. Juan Guillenno Cruz Castillo
Co-directora	Dra. Diana Guerra Ramírez
Asesor	Dr. Eduardo Campos Rojas

# ÍNDICE

NDICE	iii
LISTA DE FIGURAS	viii
LISTA DE CUADROS	ix
ABREVIATURAS	x
DEDICATORIA	xi
AGRADECIMIENTOS	xii
DATOS BIOGRÁFICOS	xiv
RESUMEN GENERAL	15
GENERAL ABSTRACT	16
INTRODUCCIÓN	17
II REVISIÓN DE LITERATURA	19
2.1 Persea schiedeana Nees	19
2.1.1 Importancia de Persea schiedeana Nees	20
2.2 Compuestos fenólicos y capacidad antioxidante	20
2.2.1 Compuestos fenólicos	21
Flavonoides	21
2.2.2 Antioxidantes	22
Determinación de la capacidad antioxidante	22
2.2.3 Compuestos fenólicos y capacidad antioxidante en aguacate	23
2.3 Aceites vegetales	25
2.3.1 Clasificación de los aceites vegetales	25
2.3.2 Importancia de los aceites vegetales	27
2.3.3 Obtención de aceites vegetales	28
Centrifugación	28
2.3.4 Aceite de chinene	29

2.3.5 Análisis de composición de aceites	30
Índice de saponificación	30
Índice de yodo	30
Composición de ácidos grasos	31
2.3.6 Análisis de rancidez en aceites	31
Índice de peróxidos	32
Ácidos grasos libres y valor ácido	33
2.3.7 Propiedades mecánicas y valor calorífico de los aceites vegetales	33
Viscosidad	33
Densidad	34
Calor de combustión	34
2.4 Estabilidad oxidativa de aceites	35
2.4.1 Uso de antioxidantes sintéticos	36
2.4.2 Uso de antioxidantes naturales	37
2.4.3 Espectroscopia infrarrojo como herramienta de análisis de aceites	38
2.5 Biodiesel	39
2.5.1 Transesterificación	40
2.5.2 Ventajas del biodiesel	41
2.7 Referencias	42
III PROPIEDADES NUTRICIONALES Y NUTRACÉUTICAS DE FRUTOS	DE
Persea schiedeana Nees	51
RESUMEN	51
ABSTRACT	52
3.1 INTRODUCCIÓN	52
3.2 MATERIALES Y MÉTODOS	
	52
3.2.1 Material vegetal	
3.2.1 Material vegetal      3.2.2 Caracterización física de frutos	54
	54 54
3.2.2 Caracterización física de frutos	54 54 54
3.2.2 Caracterización física de frutos	54 54 54

Determinación de fenoles totales	55
Determinación de flavonoides	56
Ensayo ABTS	56
Ensayo DPPH	56
Ensayo FRAP	57
3.2.5 Análisis estadístico	58
3.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	58
3.3.1 Caracterización física de frutos	58
3.3.2 Análisis proximal	59
3.3.3 Fenoles totales	61
3.3.4 Capacidad antioxidante	64
3.4 CONCLUSIONES	65
3.5 REFERENCIAS	NIDO POR
RESUMEN	69
ABSTRACT	70
4.1 INTRODUCCIÓN	70
4.2 MATERIALES Y MÉTODOS	71
4.2.1 Extracción de aceite por Soxhlet	71
4.2.2 Extracción de aceite por centrifugado	72
Perfil de ácidos grasos	73
Propiedades fisicoquímicas del aceite obtenido por centrifuga	ción 73
Porcentaje de ácidos grasos libres	73
Índice de peróxidos	74
Índice de yodo	75
Índice de saponificación	75
Viscosidad y densidad	76
Calor de combustión	76
4.2.3 Análisis estadístico	76

4.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	77
4.3.1 Aceites totales obtenido por Soxhlet	77
4.3.2 Aceite obtenido por centrifugación	77
Perfil de ácidos grasos	79
Propiedades fisicoquímicas del aceite obtenido por centrifugado	80
Porcentaje de ácidos grasos libres	80
Índice de peróxidos	81
Índice de yodo	82
Índice de saponificación	83
Densidad	84
Viscosidad dinámica	85
Viscosidad cinemática	86
Calor de combustión	87
4.4 CONCLUSIONES	87
4.5 REFERENCIAS	88
4.5 REFERENCIAS	
V BIODIESEL A PARTIR DE FRUTOS DE DESECHO DE Persea schie	deana
V BIODIESEL A PARTIR DE FRUTOS DE DESECHO DE <i>Persea schie</i> Nees	deana
V BIODIESEL A PARTIR DE FRUTOS DE DESECHO DE Persea schie	deana 92 92
V BIODIESEL A PARTIR DE FRUTOS DE DESECHO DE <i>Persea schie</i> Nees	deana 92 92 92
V BIODIESEL A PARTIR DE FRUTOS DE DESECHO DE <i>Persea schie</i> Nees RESUMENABSTRACT	deana 92 92 92
V BIODIESEL A PARTIR DE FRUTOS DE DESECHO DE <i>Persea schie</i> Nees RESUMEN ABSTRACT 5.1 INTRODUCCIÓN	92 92 92 93 94
V BIODIESEL A PARTIR DE FRUTOS DE DESECHO DE <i>Persea schie</i> Nees	92 92 92 93 94
Nees	92 92 93 94 95
Nees	92 92 93 94 94 95
Nees RESUMEN  5.1 INTRODUCCIÓN  5.2 MATERIALES Y MÉTODOS  Perfil de ácidos grasos  Propiedades fisicoquímicas del aceite  Propiedades fisicoquímicas del aceite	92 92 93 94 95 96
Nees	92 93 94 94 95 96
Nees RESUMEN  5.1 INTRODUCCIÓN  5.2 MATERIALES Y MÉTODOS  Perfil de ácidos grasos Propiedades fisicoquímicas del aceite Propiedades físicas del aceite y biodiesel  Propiedades físicas del aceite y biodiesel	92 92 93 94 95 96 96 96
Nees RESUMEN ABSTRACT  5.1 INTRODUCCIÓN  5.2 MATERIALES Y MÉTODOS  5.2.1 Extracción de aceite por maceración Perfil de ácidos grasos Propiedades físicoquímicas del aceite Propiedades químicas del aceite Propiedades físicas del aceite y biodiesel  5.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	92 92 93 94 95 96 96 96 97

Propiedades mecánicas y valor calorífico del aceite y biodiesel	102
Densidad	102
Viscosidad dinámica	103
Viscosidad cinemática	104
Calor de combustión	105
5.4 CONCLUSIONES	100
5.5 REFERENCIAS	100
VI EVALUACIÓN DE LA INHIBICIÓN OXIDATIVA EN ACEITE	CON
EXTRACTOS ETANÓLICOS DE CÁSCARA DE Persea schiedeana Nee	es 110
RESUMEN	110
ABSTRACT	_ 11′
6.1 INTRODUCCIÓN	11
6.2 MATERIALES Y MÉTODOS	112
6.2.1 Preparación de extracto	112
6.2.2 Capacidad de inhibición del extracto etanólico	_ 113
6.2.3 Análisis de aceite por espectroscopia infrarroja	114
6.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	_ 114
6.3.1 Análisis de aceite por espectroscopia	_ 114
6.4 CONCLUSIONES	11
6.5 REFERENCIAS	11
CONCLUSIONES GENERALES	12

# **LISTA DE FIGURAS**

Figura 1 Reacción de transesterificación de los triglicéridos
Figura 2 ContenidoTotal de Fenoles (CTF) y flavonoides totales (FT) en frutos
de P. schiedeana
Figura 3. Densidad del aceite de P. schiedeana de 20 a 90 °C obtenido por
centrifugado85
Figura 4 Viscosidad dinámica (20-90 °C) del aceite de P. schiedeana obtenido
por centrifugado86
Figura 5 Viscosidad cinemática del aceite de P. schiedeana obtenido por
centrifugado86
Figura 6 Espectro RMN-1H de los ésteres metilicos de aceite de P. schiedeana.
Figura 7 Perfil de ácidos grasos del aceite de P. schiedeana extraído por
maceración comparado con otros aceites
Figura 8 Densidad del aceite, biodiesel y mezclas de biodiesel 103
Figura 9 Viscosidad cinemática (40 °C) de diésel, biodiesel y mezclas 104
Figura 10 Calor de combustión de aceite, biodiesel y mezclas de biodiesel 105

# LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Clasificación taxonómica del árbol de P. schiedeana Nees 19
Cuadro 2. Pesos frescos de frutos de <i>P. schiedeana</i> de Huatusco, Veracruz (g).
59
Cuadro 3. Longitud y diámetro de frutos de P. schiedeana de Huatusco,
Veracruz (cm)
Cuadro 4. Análisis proximal de frutos de P. schiedeana de Huatusco, Veracruz.
60
Cuadro 5 Fenoles totales, flavonoides totales y capacidad antioxidante de frutos
de <i>P. schiedeana</i> de Huatusco, Veracruz62
Cuadro 6 Rendimientos de extracción de aceite por centrifugación de pulpa con
diferentes sales inorgánicas78
Cuadro 7. Perfil de ácidos grasos del aceite de P. schiedeana extraído mediante
centrifugado (%)
Cuadro 8. índice de acidez (%), peróxidos (meq o² Kg <sup>-1</sup> ), yodo (g l <sub>2</sub> 100 g <sup>-1</sup> ) y
saponificación (mg KOH g <sup>-1</sup> ) del aceite extraído por centrifugado de <i>P</i> .
schiedeana82
Cuadro 9. Calor de combustión (MJKg <sup>-1</sup> ) del aceite extraído por centrifugado de
la pulpa de <i>P. schiedeana.</i> 87
Cuadro 10. Propiedades químicas del aceite obtenido por maceración de P.
schiedeana. <sup>1</sup> Este estudio <sup>2</sup> Campos-Hernández et al. (2011) <sup>3</sup> Jácome et al.
(2014) <sup>4</sup> NMX-F-052-SCFI, 2008
Cuadro 11 Frecuencias y asignación para el espectro FTIR del aceite de P.
schiedeana116

# **ABREVIATURAS**

AGL Ácidos grasos libres

CFT Contenido de fenoles totales

FAME Ésteres metílicos de ácidos grasos

IP Índice de peroxidos

IS Índice de saponificación

IY Índice de yodo

Ixp Ixpila

KOH Hidróxido de potasio

M1 Michapa 1

M2 Michapa 2

## **DEDICATORIA**

A mi padre: Marcelino López Valdés,

mi héroe y mi eterno salvador,

agradecida por su amor y protección

A mi madre: Cira Yerena Mendoza,

siempre una guerrera,

su amor y comprensión me han transformado.

Ellos son el motivo para luchar cada día.

A mis hermanos, amigos y a todas las personas que han llenado de amor mi vida.

Anita

#### **AGRADECIMIENTOS**

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el financiamiento que me otorgaron a través de la beca de estudios de posgrado.

Al Consejo Mexiquense de Ciencia y Tecnología (COMECyT) por el apoyo económico otorgado para este trabajo de investigación en la etapa final.

A la Universidad Autónoma Chapingo y en particular al Posgrado en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria por haberme brindado la oportunidad de ampliar y mejorar mis conocimientos profesionales.

Al Dr. Juan Guillermo Cruz Castillo por su disposición, apoyo, orientación y por la confianza para realizar este trabajo de investigación.

A la Dra. Diana Guerra Ramírez, por su apoyo, asesoría, compromiso y alegría, pero sobre todo por su amistad y ayuda.

Al Dr. Eduardo Campos Rojas por su asesoría y facilidades otorgadas durante mi formación académica y trabajo de investigación.

Al laboratorio de Productos Naturales del Departamento de Preparatoria Agrícola y a las personas que laboran ahí, por brindarme el apoyo y confianza para usar sus instalaciones.

A la Dra. Irma Salgado por sus asesoría, trabajo y dedicación, pero sobretodo gracias por su amistad y su amor, siempre me sentí protegida, gracias por sus consejos.

Al Dr. Benito Reyes Trejo por sus consejos y por haberme dirigido durante mi estancia en el laboratorio.

A mis amigos Adela, Diana y Koh, por todas nuestras vivencias y aprendizajes, gracias por todo.

A la señora Esperanza Salinas por orientarme y facilitar siempre los trámites necesarios durante mi estancia en el posgrado.

Y a todos los que de manera indirecta contribuyeron para concluir con éxito este trabajo.

Gracias.

# **DATOS BIOGRÁFICOS**

# **Datos personales**

Nombre: Anallely López Yerena

Fecha de nacimiento: 20 de junio de 1990

Lugar de nacimiento: Huatusco de Chicuellar, Veracruz

CURP: LOYA900620MVZPRN08

Profesión: Ingeniero Agroindustrial

Cédula Profesional: 8223120

#### Desarrollo académico

Bachillerato: Colegio de Bachilleres del Estado de Veracruz, plantel 25, Huatusco, Veracruz.

Licenciatura: Universidad Politécnica de Huatusco.

#### RESUMEN GENERAL

# APROVECHAMIENTO INTEGRAL DE FRUTOS DE Persea schiedeana Nees

Actualmente existe un creciente interés en investigar los frutos silvestres para encontrar sus posibles usos, beneficios a la salud, fomentar su consumo y producción. Tres accesiones de frutos de P schiedeana denominadas como Ixpila (Ixp), Michapa 1 (M1) y Michapa 2 (M2) fueron colectadas en Huatusco, Veracruz, para determinar las propiedades nutracéuticas del fruto, la extracción de aceite del mesocarpio, la evaluación de la estabilidad oxidativa de aceite sometido a tratamiento térmico y la obtención de biodiesel. Las propiedades nutracéuticas fueron determinadas en cada una de las partes del fruto cuantificando fenoles y flavonoides totales y la capacidad antioxidante (ensayos ABTS, DPPH y FRAP). Los aceites se obtuvieron por centrifugación (17 000 g, 30 min) de mezclas pulpa con disolución de sales inorgánicas. El biodiesel fue obtenido por la reacción de transesterificación del aceite con metanol en medio alcalino. El aceite obtenido del mesocarpio fue tratado con extracto etanólico de cáscara de P. schiedeana a diferentes concentraciones, con el fin de evaluar la estabilidad oxidativa (180 °C, 6 h). La cáscara de los frutos M2 presentó el mayor contenido de fenoles y flavonoides totales (30.79  $\pm$  0.99 mg EAG g $_{\rm bs}^{-1}$  y  $0.49 \pm 0.00 \text{ mg EC g}_{bs}^{-1}$ , respectivamente) y capacidad antioxidante por los ensayos ABTS, DPPH y FRAP (164.56 ± 2.41, 100.34 ± 5.68 y 80.63 ± 1.32 μmol ET g<sub>bs</sub><sup>-1</sup>, respectivamente). La extracción por centrifugación con CaCO<sub>3</sub> al 5 % y frutos lxp proporciono el mayor rendimiento de aceite (45.38 %), donde el ácido graso predominante fue el oleico. Los componentes principales del biodiesel fueron oleato de metilo y palmitato de metilo (53.12 y 25.74 %). El aceite obtenido por Soxhlet se isomerizó durante el proceso de extracción, por lo que no se observaron cambios cuando se adicionó el extracto de cáscara de chinene como antioxidante.

**Palabras clave:** Aceite, biodiesel, estabilidad oxidativa, propiedades nutracéuticas, *Persea schiedeana*.

Autor: Anallely López Yerena

Director de Tesis: Dr. Juan Guillermo Cruz Castillo

Tesis de Maestría en Ciencias en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria, Universidad Autónoma Chapingo

#### **GENERAL ABSTRACT**

# COMPREHENSIVE UTILIZATION OF *Persea schiedeana* Nees fruits

There is growing interest in investigating wild fruits to find their potential uses and health benefits, and to encourage their consumption and production. Three accessions of P schiedeana fruits known as Ixpila (Ixp), Michapa 1 (M1) and Michapa 2 (M2) were collected in Huatusco, Veracruz, to determine the nutraceutical properties of the fruit, extract oil from the mesocarp, evaluate the oxidative stability of heat-treated oil and obtain biodiesel. Nutraceutical properties were determined in each one of the parts of the fruit by quantifying total phenols and flavonoids and antioxidant capacity (ABTS, DPPH and FRAP assays). The oils were obtained by centrifugation (17 000 g, 30 min) of pulp mixtures with dissolution of inorganic salts. The biodiesel was obtained by the transesterification reaction of the oil with methanol in alkaline medium. The oil obtained from the mesocarp was treated with ethanolic extract of P. schiedeana peel at different concentrations, to evaluate the oxidative stability (180 °C, 6 h). The peel of M2 fruits had the highest content of total phenols and flavonoids (30.79  $\pm$  0. mg GAE g  $_{db}^{-1}$  and  $0.49 \pm 0.00 \text{ mg CE g}_{db}^{-1}$ , respectively) and antioxidant capacity by ABTS, DPPH and FRAP assays (164.56  $\pm$  2.41, 100.34  $\pm$  5.68 and 80.63  $\pm$  1.32  $\mu$ mol TE  $g_{dh}^{-1}$ , respectively). Extraction by centrifugation with 5% CaCO<sub>3</sub> and Ixp fruits provided the highest oil yield (45.38 %), where the predominant fatty acid was oleic. The main biodiesel components were methyloleate and methylpalmitate (53.12 and 25.74 %). The oil obtained by Soxhlet was isomerized during the extraction process, so no changes were observed when chinene peel extract was added as an antioxidant.

**Keywords:** Oil, biodiesel, oxidative stability, nutraceutical properties, *Persea schiedeana.* 

# **I INTRODUCCIÓN**

En la actualidad existe un creciente interés en investigar los frutos silvestres para encontrar sus posibles usos, beneficios a la salud, fomentar su consumo y producción. *Persea schiedeana* Nees es un árbol frutal que se distribuye desde las regiones centrales y sur de México hasta Panamá sobre una variedad de tipos de suelos, en bosques y praderas desde los 90 hasta 2000 metros de altitud. En México, se le conoce como chinene, aguacate de manteca, chinin, escalar o pagua y crece principalmente en los estados de Chiapas, Oaxaca, Puebla, Tabasco, Veracruz y el sur de Tamaulipas. Algunas veces es utilizado como árbol de sombra en cafetales y los frutos de huertos familiares son para el autoconsumo y se comercializan en los mercados regionales, la pulpa del fruto se consume untada en tortillas de maíz.

Persea schiedeana tiene un valor reconocido como fruto de consumo con oportunidad de incrementar su producción para estimular las economías locales mediante la venta en fresco así como su aprovechamiento agroindustrial con la extracción de aceite de la pulpa, utilizando tecnologías como la centrifugación, que permitan obtener aceites con un mínimo de formación de ácidos grasos libres y de peróxidos que contribuyen a disminuir la vida de anaquel de los aceites.

Actualmente existe un creciente interés por el estudio y uso de fitoquímicos como alternativa de las sustancias sintéticas comúnmente utilizadas en la industria de los alimentos, fármacos y cosméticos. Estudios han evaluado la incorporación de antioxidantes a los aceites vegetales con el fin de retardar o inhibir los procesos de oxidación al ser sometidos a tratamiento térmico. El aprovechamiento de desperdicios agroindustriales como la cáscara de aguacate, que se caracteriza por su acto contenido de compuestos bioactivos

es una alternativa para reemplazar el uso de antioxidantes sintéticos y disminuir la cantidad de residuos generados por la industria Asimismo, la disminución en las reservas de combustibles fósiles han dado lugar a la investigación de nuevos combustibles a partir de fuentes renovables como el biodiesel, el cual puede ser obtenido a partir de frutos de desechos o aceites reutilizados con el fin de contribuir a la conservación del medio ambiente.

Los objetivos de ésta investigación fue: evaluar las propiedades nutricionales y nutracéuticas de los frutos de *Persea schiedeana;* extraer aceite del mesocarpio de los frutos mediante centrifugado utilizando sales inorgánicas; evaluar la incorporación de extractos etanólicos de cáscara de este fruto en aceite, para inhibir la oxidación cuando es sometido a tratamiento térmico y obtener biodiesel a partir de frutos sobremaduros y con presencia de plaga *Hellipus lauri*.

# **II REVISIÓN DE LITERATURA**

#### 2.1 Persea schiedeana Nees

Persea schiedeana Nees fue reconocida, en la década de los sesentas, como una especie del subgénero Persea: P. flocosa, P. schiedeana Nees, P. steyermarkiana C.K. Allen y Persea americana (Kopp, 1966). En el Cuadro 1 se muestra su clasificación taxonómica. En el contexto actual solo tres especies son reconocidas en este subgénero: P. schiedeana Nees, P. pallences y P. americana. Dentro de la familia Lauraceae y el subgénero Persea, la especie schiedeana es considerada con numerosas variantes morfológicas de fruto y como especie afín al aguacate (Persea americana Mill.) (Scora y Bergh, 2000).

Cuadro 1. Clasificación taxonómica del árbol de *P. schiedeana* Nees.

Reino	Plantae
División	Angiospermae
Orden	Laurales
Familia	Lauraceae
Género	Persea
Especie	Schiedeana
Nombre científico	Persea schiedeana Nees
(Standley v	Stevermark 1946)

(Standley y Steyermark, 1946).

El chinene (*Persea schiedeana* Nees) es un árbol frutal nativo de México y Centroamérica que se distribuye hasta Colombia (Kopp, 1966). Crece en selvas y montañas tropicales. En México se encuentra distribuido en su mayor parte en selvas o bosques y ocasionalmente en pastizales, a altitudes que van de los 90 hasta 2000 m (López *et al.*, 1999; Schieber y Zentmyer, 1977). En forma silvestre crece principalmente en los estados de Puebla, Oaxaca, Chiapas,

Tabasco, Veracruz y sur de Tamaulipas; la llanura del Golfo de México parece ser el área natural de dispersión por presentar amplia variación genética (Sánchez, 1999). También se le conoce como aguacatea, chinene, chinin, aguacate de manteca o pagua.

El árbol de *Persea schiedeana* alcanza hasta 30 m de altura, de copa amplia, con uno o dos frutos en los extremos de las ramas, con formas de cuello alargado a piriforme hasta forma redonda; alcanzando longitudes de 5 a 10 cm en la madurez, exocarpio de color verde claro u oscuro, amarillento o café hasta negro purpura, semilla de forma variada, esferoide u ovada, frecuentemente grande. Es fácilmente identificable por sus flores grandes con pedicelos largos y por sus racimos de hojas grandes (Chanderbali, 2013).

#### 2.1.1 Importancia de Persea schiedeana Nees

El árbol del chinene tolera inundaciones (Smith *et al.*, 1992) por lo tanto ha sido estudiado para controlar enfermedades de la raíz del aguacatero (Zentmyer *et al.*, 1988). Este árbol que se encuentra en algunas fincas cafetaleras, se aprovecha principalmente por la sombra que proporciona. A la fecha, no existen plantaciones comerciales de chinene (Herrera *et al.*, 2005). Su fruto en México se consume untando la pulpa del fruto en tortillas de maíz. Se han observado frutos de chinene que presentan pulpa con buenas características organolépticas adecuadas para su comercialización en mercados de mayor exigencia y competencia comercial. En algunas épocas del año el precio del chinene ha rebasado al del aguacate Hass en mercados regionales de Veracruz y Tabasco (Cruz-Castillo *et al.*, 2007).

Actualmente, en México y Guatemala existe una pérdida significativa del número de árboles debido a la destrucción de hábitats naturales donde prospera (Cruz-Castillo *et al.*, 2001 y López *et al.*, 1999). En Veracruz, el fruto del chinene es considerado relevante como alimento, en la conservación de mamíferos y en plantaciones de café (Gallina *et al.*, 1996). El fruto del *P. schiedeana* es reconocido, de manera empírica, en la región central de

Veracruz por mejorar la digestión (Bost, 2009). El perfil de ácidos grasos del fruto de *P. schiedeana* es parecido al del aguacate. Contiene 27, 63 y 9% de ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados, respectivamente (Rendón, 2003). En dos años consecutivos los análisis de ácidos grasos del chinene revelaron concentraciones de ácidos oleico y palmítico comparables a las del aguacate (Cruz-Castillo *et al.*, 2007).

La extracción de aceite del mesocarpio de *P. schiedeana*, usando una mezcla de hexano/isopropanol, proporciona un buen rendimiento, pero con propiedades sensoriales poco aceptables. La extracción de aceite por centrifugación podría proporcionar un aceite de mayor calidad. La selección de árboles de *P. schiedeana* que produzcan frutos con aceite de alta calidad junto con un manejo agronómico podrían fomentar el desarrollo de un nuevo producto agroindustrial proveniente de un fruto Mesoamericano que presenta una corta vida en poscosecha (Campos-Hernández *et al.*, 2012).

#### 2.2 Compuestos fenólicos y capacidad antioxidante

#### 2.2.1 Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos comprenden una amplia gama de sustancias, presentes en las plantas, que poseen en común un anillo aromático con uno o más sustituyentes hidroxilo. Las sustancias fenólicas tienden a ser hidrosolubles debido a que frecuentemente se encuentra como glicósidos (Harborne, 1998). Entre los compuestos fenólicos naturales, de los cuales varios cientos de estructuras son conocidas, los flavonoides forman el grupo más grande, pero los fenoles monocíclicos simples, los fenilpropanoides y las quinonas fenólicas existen en números considerables. Varios grupos importantes de materiales poliméricos en las plantas, ligninas, melaninas y taninos son polifenólicos (Soobrattee et al., 2005). Estos compuestos poseen la capacidad de funcionar como antioxidantes, los cuales donan un electrón a un radical libre y lo convierten en una molécula inocua (Charles et al., 2012). Diversas metodologías se han utilizado para cuantificar los compuestos bioactivos en las

frutas, uno de los principales es el método colorimétrico de Folin-Ciocalteu que estima la cantidad de fenoles totales (Charles *et al.*, 2011). El ensayo Folin-Ciocalteu tiene ciertas ventajas sobre los ensayos para determinar la capacidad antioxidante total en que este es más simple, rápido, sólido y no requiere equipo especializado (Berker *et al.*, 2013).

#### **Flavonoides**

Los flavonoides se forman en las plantas desde los aminoácidos aromáticos fenilalanina y tirosina y malonato (Pietta, 2000). Los flavonoides son una gran clase de compuestos, localizados en las plantas, y por lo general se producen como glicósidos. Las variaciones estructurales dentro de los anillos subdividen a los flavonoides en varias familias: los flavonoles (quercetina y el kaempferol), las flavonas (luteolina, apigenina y crisina), los flavanoles (catequina) y las isoflavonas (genisteína) (Rice-Evans *et al.*, 1996). Diversas metodologías se han utilizado para cuantificar los compuestos bioactivos en las frutas, uno de los principales es para cuantificar flavonoides totales utilizando el ensayo colorimétrico cloruro de aluminio (Charles *et al.*, 2011).

#### 2.2.2 Antioxidantes

Un antioxidante es una molécula capaz de inhibir la oxidación de otras moléculas. En términos de alimentos, un antioxidante ha sido definido como una sustancia que cuando está presente en baja concentración comparada con la del sustrato oxidable retrasa o inhibe significativamente la oxidación de dicho sustrato (Gülçin, 2012).

Los radicales libres en las células se forman durante los procesos bioquímicos, bajo condiciones naturales, especialmente en los procesos de oxidación. Cierta cantidad de radicales libres son requeridas para el mantenimiento normal *in vivo*. Una gran cantidad podría dañar los lípidos, proteínas, ácidos nucleicos y carbohidratos. La formación de radicales libres es inducida por factores internos y externos (fumar, estrés, alcohol, etc.). Los antioxidantes tienden a disminuir la concentración de radicales libres o inhibir su formación (Rácz *et al.*, 2015). Los

mecanismos de defensa contra los efectos de la oxidación son proporcionados por la acción de diversos antioxidantes y la necesidad de medir la capacidad antioxidante es bien documentada (Antolovich et al., 2002). Los antioxidante presentes en las frutas como los ácidos fenólicos, flavonoides, antocianinas y taninos, han sido asociados con beneficios a la salud (Fu et al., 2011). Según numerosos estudios epidemiológicos, los antioxidantes de los alimentos parecen estar estrechamente relacionados con la prevención de numerosas patologías, incluyendo diferentes tipos de cáncer. enfermedades cardiovasculares y trastornos neurológicas relacionadas con el envejecimiento. Además de las vitaminas A, C, y E, los alimentos de origen vegetal también proporcionan a nuestra dieta otros antioxidantes en grandes cantidades: carotenoides y compuestos fenólicos, tales como flavonoides (antocianinas, flavonoles, catequinas, etc.) (Tabart et al., 2009). La efectividad de los antioxidantes está generalmente influenciada por un número de factores, incluyendo sus rasgos estructurales, concentración, temperatura, tipo de sustrato de oxidación, estado físico del sistema, la presencia de pro-oxidantes y sinergismo (Shahidi y Zhong, 2015).

#### Determinación de la capacidad antioxidante

Los métodos más comúnmente utilizados para determinar la capacidad antioxidante total se dividen en dos grandes grupos: ensayos basados en la reacción de transferencia de átomos de hidrógeno (HAT) y ensayos basados en la reacción de transferencia de un electrón (ET) (Huang *et al.*, 2005). El primero se lleva a cabo cuando los antioxidantes y el sustrato compiten por los radicales libres, mientras que el segundo se controla a través de un cambio de color cuando el oxidante se reduce (Tabart *et al.*, 2009).

Los ensayos de reacción de transferencia de electrones incluyen la Capacidad Antioxidante Equivalente de Trolox (TEAC, por sus siglas ingles, trolox equivalent antioxidant capacity), el ensayo de la capacidad de reducir en hierro del plasma (FRAP), el ensayo de reducción del cobre (CUPRAC) y el ensayo de atrapamiento del radical libre estable 2,2-difenII-1-picrilhidrazilo (DPPH, por sus

siglas en inglés). Los ensayos de reacción de transferencia de átomos de hidrógeno incluyen el ensayo de blanqueo crocina, el ensayo de atrapamiento de radicales peroxilo totales (TRAP) y la capacidad de absorción de radicales de oxígeno (ORAC). Otros métodos no incluidos en estos dos grupos se han desarrollado, tales como la capacidad de atrapamiento de los oxidantes totales (TOSC), el ensayo de quimioluminiscencia y el ensayo de electroquimioluminiscencia (Tabart *et al.*, 2009).

1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH), es una especie de radical orgánico estable. El ensayo oxidativo de DPPH se utiliza ampliamente en la cuantificación de la capacidad de captación de radicales (RSC). La capacidad de los reactivos biológicos para captar el radical DPPH, se puede expresar como la magnitud de la capacidad antioxidante. La solución de alcohol de DPPH es de color púrpura intenso con un pico de absorción a 517 nm, que desaparece con la presencia del eliminador de radicales en el sistema reactivo y cuando el electrón impar de nitrógeno en el DPPH se aparea. Comparado con otros métodos, el ensayo DPPH tiene muchas ventajas, tales como buena estabilidad, sensibilidad, sencillez y viabilidad (Deng *et al.*, 2011).

El ensayo TEAC o el ensayo ácido 2,2-azino bis (3-etilbenzo tiazolin-6 sulfónico) se basa en el atrapamiento de los radicales catiónicos ABTS+ por los antioxidantes presentes en la muestra. El radical ABTS+ típicamente tiene un color verde azulado con la máxima absorbancia entre 645 nm, 734 nm y 815 nm. Cuando hay compuestos antioxidantes en el medio de reacción, capturan los radicales libres, que se traduce en una pérdida de color y por lo tanto una reducción en la absorbancia, lo que corresponde cuantitativamente a la concentración de antioxidantes presentes. En ensayo ABTS es barato y fácil de utilizar, estable al pH y por lo tanto se puede utilizar para estudiar el efecto del pH sobre la capacidad antioxidante y es de rápida reacción (Zulueta *et al.*, 2009).

FRAP es el método descrito como la medida de la capacidad de reducción de hierro en plasma. A pH bajo, el complejo férrico-tripiridil-triazina (Fe<sup>III-</sup>TPTZ) es reducido a la forma ferrosa (FE<sup>II</sup>) con el desarrollo de un color azul intenso a una máxima absorción de 593 nm. La reacción es inespecífica y cualquier medio de reacción que tenga potencial redox menos positivo en las condiciones de reacción, que el medio de reacción en Fe<sup>III</sup>/Fe<sup>II</sup>-TPTZ impulsará la reducción de Fe<sup>III</sup>-TPTZ. Las condiciones de ensayo favorecen la reducción del complejo y, por tanto, el desarrollo de color, siempre que un reductor (antioxidante) esté presente (Benzi y Strain, 1996).

### 2.2.3 Compuestos fenólicos y capacidad antioxidante en aguacate

Se ha evaluado la capacidad antioxidante y contenido de fenoles en la semilla de aguacate (Soong y Barlow, 2004). Asimismo Rodríguez-Carpena *et al.* (2011) determinaron la composición del contenido fenólico total, perfil fenólico y potencial antioxidante de diferentes extractos de cáscara, semilla y pulpa de la variedad Hass y Fuerte para evaluar su efectividad para inhibir la oxidación de lípidos y proteínas de grasas de cerdo. En el aguacate Hass se han identificado a las procianidinas como los polifenoles que contribuyen mayormente a la capacidad antioxidante (Wang *et al.*, 2010).

La formulación de un té a partir de cáscara de aguacate (*P. americana*) fue evaluada como un producto funcional con compuestos fenólicos y capacidad antioxidante (Rotta *et al.*, 2016). Villa-Rodríguez *et al.* (2011) estudiaron los efectos del estado de madurez en la capacidad antioxidante de aguacate Hass. El perfil de los compuestos fenólicos y capacidad antioxidante en cáscara y semilla de la variedad Hass y Shepard fue determinado por Kosińska *et al.* (2012). Gorinstein *et al.* (2010) evaluaron los compuestos bioactivos en aguacate.

#### 2.3 Aceites vegetales

Los aceite vegetales son triglicéridos obtenidos normalmente de las plantas y han sido utilizados por los humanos desde hace siglos. El término aceite vegetal puede definirse como aceite de las plantas, líquido a temperatura ambiente (Rafiq *et al.*, 2015). Son triésteres de glicerol y ácidos grasos saturados e insaturados, es decir triglicéridos, comprenden entre 93 a 98 % en peso de un aceite, mientras que los diglicéridos, monoglicéridos y fosfoglicéridos como componentes menores (Sharmin *et al.*, 2015). La composición de los aceites vegetales no es estándar, ya que varía considerablemente en el aporte de ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados, y particularmente en el aporte de ácidos grasos omega-6 y omega-3, asociado a la fuente de origen, ya sea especie vegetal, semilla, planta o fruto, aportando cada uno diferentes beneficios nutricionales (Aguero *et al.*, 2015). La segunda fuente de aceites vegetales, después de las semillas oleaginosas, son los árboles productores de frutos con aceite, como el olivo, cocotero, la palma y el aguacate (O´Brien, 2004).

Las propiedades químicas y físicas de las grasas y aceites son extensamente determinadas por los ácidos grasos que contienen y su posición en la molécula de triacilglicerol. Químicamente todos los aceites son ésteres de glicerina y ácidos grasos, no obstante; las propiedades físicas de aceites naturales varían ampliamente debido a que las proporciones de los ácidos grasos cambian en intervalos amplios y la estructura del triacilglicerol varía para cada aceite individual (O´Brien, 2004). Las grasas y aceites son comúnmente nombrados como triglicéridos porque la molécula de glicerina tiene tres grupos hidroxilo y un ácido graso puede estar unido. Todos los triglicéridos tienen la misma unidad de glicerina, así que es el ácido graso el que contribuye a las distintas propiedades. Los ácidos grasos son distinguidos de tres formas: largo de la cadena, número y posición de los dobles enlaces y posición de los ácidos grasos en la molécula de glicérido. Las variaciones en estas características son responsables de las diferencias químicas y físicas encontradas en las grasas y aceites comestibles (Kevin y David, 2003).

La estructura de un ácido graso puede ser denotada por un nombre sistemático de acuerdo a la nomenclatura del hidrocarbono principal, por su nombre bioquímico, nombre común, o por una designación corta mostrando el número de átomos de carbono y número de dobles enlaces. La longitud de la cadena de carbonos de los ácidos grasos varía entre 4 a 24 átomos de carbono, con hasta seis dobles enlaces (Harwood y Scrimgeour, 2007). Los ácidos grasos saturados que más prevalecen en los aceites son: laurico (C-12:0), mirístico (C-14:0), palmítico (C-16:0), esteárico (C-18:0), araquídico (C-20:0), behenico (C-22:0) y lignocérico (C-24:0). Los ácidos grasos monoinsaturados más importantes son: oleico (C-18:1) y erúcico (C-22:1). Los ácidos grasos polinsaturados son: linoleico (C-18:2), linolénico (C-18:3), eicosapentaenoico (EPA) (C-20:5) y docosahexaenoico (DHA) (C-22:6) (Kelly y Kuang, 2007).

La composición de las grasas y aceites naturales cambia significantemente dependiendo, no solamente de las especies animales o vegetales, sino también entre las mismas especies. Entre los factores que afectan la composición de los ácidos grasos de aceites vegetales están las condiciones climáticas, tipo de suelo, madurez de la planta, salud de la planta, condiciones microbiológicas, ubicación de la semilla en la flor y variaciones genéticas de las plantas (Lucie y Pokorny, 2002). Los métodos para determinar la composición de los aceites son importantes no solamente por el contenido de ácidos grasos y el patrón de distribución de glicéridos elaborado por las plantas, sino también porque el carácter físico y uso final está directamente relacionado con su composición (O´Brien, 2004).

# 2.3.1 Clasificación de los aceites vegetales

De acuerdo al Departamento de Agricultura de Estados Unidos, los aceites vegetales pueden ser clasificados en tres categorías, basados en su producción, uso y volumen: aceites mayores, aceites menores y aceites no comestibles (Honary, 2010). Los aceites mayores son aquellos conocidos para consumo humano o animal y juegan un papel importante en la economía en las regiones donde se producen, entre estos se incluyen los aceites de soya, palma, girasol, canola, algodón, coco, olivo, ajonjolí, cacahuate, lino, almendra. Los aceites menores son los conocidos por sus usos pero que no igualan la

producción de los primeros, estos aceites tienen perfiles de ácidos grasos que puede hacerlos efectivos para uso industrial; entre ellos se incluyen la semilla niger, amapola, semilla de cacao, karité, sebo vegetal chino, mahogany de Etiopia, semilla de mango, semilla de uva, ajonjolí alemán, semilla de sandía, aguacate y semilla de albaricoque. Los aceites no comestibles comprenden la tercera categoría donde el aceite es extraído exclusivamente para uso industrial y son aprovechados por su composición química en la fabricación de jabones, pinturas, barnices, resinas, plásticos y en agroquímicos, asimismo son utilizados como lubricantes industriales (Atabani *et al.*, 2013).

### 2.3.2 Importancia de los aceites vegetales

Los aceites vegetales juegan un papel sensorial y funcional importante en productos alimenticios, actúan como transportador de vitaminas liposolubles como la A, D, E y K, a su vez proveen de energía y ácidos grasos esenciales como el linoleico y linolénico, también son parte de los ingredientes para fabricación de jabones, cosméticos y productos farmacéuticos (Fasina y Colley, 2008). La calidad química del aceite depende del cultivar, madurez, condiciones agronómicas entre otros factores (Davis et al., 2008). El consumo de ácidos grasos saturados incrementa las concentraciones de lipoproteínas de baja densidad y colesterol en la sangre, en comparación con ácidos grasos insaturados como oleico y linoleico (Ratnayake y Zehaluk, 2005). El aceite de aguacate tiene valiosas propiedades nutricionales, incluyendo un alto nivel de lípidos monoinsaturados conocidos por reducir los niveles de colesterol en sangre. El aceite también se utiliza en preparaciones cosméticas y su materia insaponificable es explotada en diversas aplicaciones farmacéuticas con fines terapéuticos, dermatológicos y usos médicos (Mostert et al., 2007).

#### 2.3.3 Obtención de aceites vegetales

La producción de aceite comestible por procesos de extracción aumentó considerablemente en el último siglo debido tanto a la mayor demanda y consumo y la disponibilidad progresiva de procesos tecnológicos y equipos

más eficientes (Landucci *et al.*, 2013). De acuerdo con Human (1987) se han propuesto diversos métodos de extracción del aceite de la pulpa de aguacate, entre los cuales se incluye: la extracción mediante prensado utilizando presiones desde 3000 a 4000 psi (libras por pulgada cuadrada), calentamiento de la pulpa bajo una corriente de vapor a presión y posterior prensado, prensado hidráulico de rebanadas secas seguida de extracción con disolventes, de los aceites remanentes en la torta. Liofilizado de la pulpa y prensado hidráulico, calentamiento de la pulpa seguido de prensado hidráulico. También se ha extraído aceite de aguacate mediante secado de la pulpa y prensado a altas temperaturas con disolventes orgánicos, y la extracción mediante separación por fuerza centrífuga, este último ha sido utilizado para reducir costos de energía y minimizar la contaminación causada por los disolventes orgánicos (Werman y Neeman, 1987).

## Centrifugación

La centrifugación representa una de las principales técnicas para separar las partículas de los líquidos (Anlauf, 2007). Centrifugado es el nombre dado a las aplicaciones de separación que consisten en producir el giro alrededor de un eje para generar la fuerza centrífuga, de esta forma se incrementa el campo gravitacional, la separación acelerada es posible por el efecto de la fuerza centrífuga (Berk, 2009). La extracción de aceite de aguacate mediante centrifugado consiste en la separación de una mezcla aqua-pulpa a la cual se le ha dado diversos tratamientos para evaluar el rendimiento de extracción. Buenrostro et al. (1986) mencionan que la utilización de enzimas permiten recuperar hasta el 74 % del total de aceites, utilizando una velocidad de centrifugado de 12 300 g. También se han utilizado sales inorgánicas como cloruro de sodio al 5 % añadidas a la mezcla agua-pulpa. Por otro lado, el ajuste de pH de la pulpa a 5.5, sin adición de sal produce un porcentaje de aceite entre 75.3 % y 72.7 % (Werman y Neeman, 1987). La adición de carbonato de calcio (CaCO<sub>3</sub>) o sulfato de calcio (CaSO<sub>4</sub>) al 5 % a pH 5.5 de la pulpa, seguido de un centrifugado a 12 300 g, permitió obtener aceite de aguacate con un rendimiento de aproximadamente 70 % (Bizimana *et al.*, 1993). Jácome *et al.* (2014) evaluaron la extracción de aceite de chinene por centrifugación asistida con microondas convencional con porcentajes de recuperación de 66.87 a 68.12 % del total de aceite contenido en la pulpa.

#### 2.3.4 Aceite de chinene

El aceite de chinene ha sido extraído de la pulpa utilizando éter de petróleo como disolvente por método Soxhlet, para obtener 67.48 % de aceite con base en el peso seco (Rendón, 2003) realizó la extracción y un perfil de ácidos grasos consistente en 53 al 64 % de ácido oléico, seguido del ácido palmítico y linoleico, 23.8 a 27.54 % y 7.92 a 11.23 %, respectivamente. Campos-Hernández et al. (2011) aplicaron el proceso de maceración con una mezcla isopropanol /hexano, pero el rendimientos fue muy bajo (12 %). Jácome et al. (2014) obtuvieron rendimientos del 66.87 al 68.12 % en la extracción por centrifugación asistida con microondas convencional.

El aceite de chinene presenta en su composición química la vitamina E, además su coloración verde sugiere la presencia de clorofilas, las cuales son pigmentos antioxidantes presentes en aguacate Hass (Ashton *et al.*, 2006).

## 2.3.5 Análisis de composición de aceites

#### Índice de saponificación

Se define como el número de miligramos de KOH que se requiere para saponificar 1 g de una grasa o aceite. En términos moleculares, un mol de grasa o aceite requiere tres moles de KOH para su saponificación completa porque hay tres enlaces éster en una molécula, así pues, las grasas y aceites de peso molecular alto tienen índices de saponificación más bajos que los de peso molecular bajo (Baley, 1998) es decir, el índice de saponificación tiene una correlación inversa con el peso molecular (Ortiz-Moreno *et al.*, 2003).

#### Índice de vodo

El cálculo cuantitativo de la insaturación de una grasa se expresa como índice de yodo y depende del número medio de enlaces dobles por molécula y el peso molecular de la grasa (Norman, 1983) y es una medida directa de la cantidad de dobles enlaces (Ortiz-Moreno *et al.,* 2004 y Ariza-Ortega *et al.,* 2011). Es expresado en miligramos de yodo absorbido por gramo de muestra. La determinación puede ser llevada a cabo con el reactivo de Wijs, el cual es añadido en exceso a la muestra, permitiendo reaccionar durante 30 min a 25 °C, el reactivo en exceso es tratado con yoduro de potasio para convertirlo a su yodo equivalente y es titulado con tiosulfato de sodio e indicador de almidón hasta que el color azul desaparece (O'Keefe y Pike, 2010).

# Composición de ácidos grasos

El análisis de composición de ácidos grasos mediante cromatografía de gases y líquidos provee un medio rápido y preciso para determinar su distribución en productos oleosos. Esta información beneficia en todos los aspectos de desarrollo de productos, control de procesos y comercialización porque las características físicas, químicas y nutricionales de un aceite son influenciadas por los tipos y proporciones de los ácidos grasos. Los resultados del análisis proveen una cantidad de información importante en como la identificación de ácidos grasos individuales, la cantidad y niveles de saturación-insaturación así como la identificación de isómeros geométricos en los ácidos grasos insaturados. También provee datos para determinar las proporciones de fuentes de aceites y proceso de un producto mezclado, esta información aplica por igual para aceites refinados y sin refinar (Seppänen *et al.*, 2002).

El procedimiento de cromatografía de gases involucra el proceso de transesterificación, que consiste en la obtención de ésteres metílicos a partir de los triglicéridos. Los ésteres metílicos de ácidos grasos, pasan a través de una columna calentada y son arrastrados por un gas de transporte como helio o nitrógeno. Los componentes de la mezcla son eluidos con el gas y detectados y

medidos a la salida de la columna por un medio conveniente, el tiempo de retención es el tiempo requerido por un compuesto dado al pasar a través de la columna, los ésteres de ácidos grasos salen en el orden de saturación. La separación de los ácidos grasos está basada en la longitud de la cadena, grado de saturación, así como la geometría y posición de los dobles enlaces (Dodds *et al.*, 2005).

#### 2.3.6 Análisis de rancidez en aceites

## Índice de peróxidos

La oxidación de lípidos es la principal causa de su deterioro y los hidroperóxidos formados por la reacción entre el oxígeno y los ácidos grasos insaturados son los productos primarios de esta reacción. Los hidroperóxidos no tienen olor ni sabor pero colapsan rápidamente para formar aldehídos, los cuales tienen olor y sabor desagradables. La concentración de peróxidos, generalmente expresada como índice de peróxidos, es una medida de la oxidación y la rancidez en sus primeras etapas (O´Brien, 2004).

Este índice mide la concentración de sustancias, en términos de miliequivalentes de oxígeno activo por cada 1000 gramos de muestra, que oxidan el yoduro de potasio a yodo (Canapi *et al.*, 2005). La susceptibilidad de los ácidos grasos a la oxidación está relacionado directamente con el grado de insaturaciones. Fuera de la relevancia biológica de sus ácidos grasos, el ácido docohexanoico uno de los más oxidables y el ácido palmítico uno de los menos oxidables (Richard *et al.*, 2008). El índice de peróxidos es uno de las pruebas químicas más ampliamente usadas para la determinación de la calidad de aceites o de su grado de rancidez, así también ha mostrado buena correlación con resultados organolépticos de sabor.

La rancidez es acelerada por exposición al calor, luz, la humedad y por la presencia de trazas de metales de transición como cobre, níquel, fierro así como colorantes y pigmentos naturales residuales. La oxidación de las grasas o

aceites es lenta y se conoce como periodo de inducción; al final de este periodo, se alcanza una cantidad de peróxido que provoca un aumento de la velocidad oxidativa, y el aceite empieza a tener un olor y sabor rancio (Jiménez et al., 2009).

# Ácidos grasos libres y valor ácido

Los aceites se descomponen desde el momento en que son aislados de su ambiente natural, la presencia de ácidos grasos libres es un indicador de la actividad de la lipasa u otra acción hidrolítica (Jiménez et al., 2009). La rancidez hidrolítica ocurre como resultado de la separación de una molécula de triglicérido en el enlace éster con la formación de ácidos grasos libres (AGL), los cuales confieren a los aceites olores, sabores y características indeseables. Los sabores resultantes del desarrollo de los AGL dependen de la composición del aceite, la liberación de ácidos grasos de cadena corta, como butírico, caproico y caprico, causan particularmente olores y sabores desagradables, mientras que los ácidos grasos de cadena larga, palmitoleico, oleico, linoleico, entre otros; producen sabores a cera o jabonosos (Canapi et al., 2005).

Estos parámetros son una medida del contenido de los ácidos grasos libres de un aceite. El valor ácido es la cantidad de hidróxido de potasio requerida para neutralización y los AGL utilizan hidróxido de sodio para neutralización, pueden ser expresados en términos de valor ácido multiplicando el porcentaje de AGL por 1.99. Los AGL son calculados con base en el ácido oleico para la mayoría de los aceites y para el aceite de coco y grano de palma es calculado con base en el ácido ácido láurico o palmítico, respectivamente (Nielsen, 2010).

## 2.3.7 Propiedades mecánicas y valor calorífico de los aceites vegetales

#### Viscosidad

La viscosidad del aceite se define normalmente de dos formas, ya sea basado en la viscosidad absoluta o la viscosidad cinemática. La viscosidad absoluta es la resistencia al flujo y al cizallamiento debido a la fricción interna. Por el

contrario, la viscosidad cinemática es la resistencia al flujo y al cizallamiento debido a la gravedad. La viscosidad cinemática de aceite se puede obtener dividiendo la viscosidad absoluta y su densidad correspondiente (Diamante y Lan 2014). La viscosidad de los aceites vegetales depende principalmente del tipo de triglicéridos, asimismo es afectada por la temperatura (Sadat y Khan, 2007), donde a mayor temperatura aplicada al aceite presentará una menor viscosidad (Fasina y Colley, 2008). Los aceites vegetales han incrementado su importancia no solo por sus propósitos nutricionales sino también como materia prima para un amplio rango de productos que incluyen combustibles, productos para el cuidado de la piel, lubricantes y pinturas, estas implicaciones requieren estudios extensivos de sus propiedades fisicoquímicas para asegurar su adecuado uso como materia prima (Eromosele y Paschal, 2003).

#### **Densidad**

Los aceites vegetales estan formados principalmente por triacilgliceroles además de una variedad de compuestos menores, las variaciones en el tipo y cantidad de estos compuestos son responsables de las diferencias en sus propiedades físicas (Ceriani *et al.*, 2008). Los aceites vegetales son de gran importancia en la industria de alimentos, jabones, cosméticos y farmacéuticos, debido a esto la estimación de la densidad es esencial para el diseño de procesos unitarios como destilación, intercambiadores de calor, tuberías entre otros (Rodenbush *et al.*, 1999). La densidad de los aceites vegetales disminuye linealmente con el incremento de la temperatura, a su vez es dependiente del peso molecular de los ácidos grasos presentes en el aceite, se ha reportado que un alto contenido de ácido oleico produce valores más altos de densidad en comparación con el ácido linoleico y linolénico (Davis *et al.*, 2008).

#### Calor de combustión

El calor de combustión o valor calorífico es la cantidad de calor producido por la combustión de 1 Kg de aceite. Es la energía liberada cuando los componentes presentes como moléculas de hidrogeno, carbono y oxígeno son

completamente convertidos en dióxido de carbono y agua, este valor aumenta con la longitud de los ácidos grasos presentes en las moléculas de triglicéridos (Levine *et al.*, 2014). La presencia de porcentajes altos de ácidos grasos insaturados como oleico, linoleico y linolénico en los aceites producirán valores de calor de combustión más elevados en comparación con los ácidos grasos saturados (Gerhard y Robert, 2005). El calor de combustión aumenta linealmente con el incremento de la temperatura (Fasina y Colley, 2008).

#### 2.4 Estabilidad oxidativa de aceites

La peroxidacion lipídica es la principal causa del deterioro de los alimentos, afectando el color, sabor, textura y valor nutricional (Halliwell y Gutteridge, 1999). Las propiedades organolépticas de los alimentos están determinados por el contenido de ácidos grasos polinsaturados, sabores, aromas, vitaminas y antioxidantes. Sin embargo, los compuestos lipofílicos ricos en largas cadenas de hidrocarburos insaturados, tales como los PUFA's, son susceptibles a la oxidación de lípidos que resulta en el deterioro y la degradación de sus propiedades funcionales (Hernández, 2016). El grado de insaturación es un indicador de la inestabilidad térmica llegando a ser más inestable cuando el grado de insaturación progresa de mono a tri insaturaciones. La inestabilidad relativa a la oxidación es aproximadamente 1:10:100:200 para los ácidos grasos saturados, mono, di y tri insaturados (Rafiq *et al.*, 2015).

La oxidación lipídica es un fenómeno complejo inducido por oxígeno en presencia de iniciadores tales como calor, radicales libres, luz, pigmentos fotosensibles e iones metálicos (Laguerre et al., 2007). Estos radicales libres recién formados reaccionan rápidamente con los radicales peroxilo productores de oxígeno molecular, que mantienen alta reactividad y generan hidroperóxidos, que son productos de la oxidación primaria (Chaiyasit et al., 2007). Los radicales alcoxilo contribuyen a la propagación de la oxidación y soportan varias reacciones de escisión que conducen a la formación de productos de oxidación secundarios, tales como aldehídos, cetonas, alcoholes, alcanos, ésteres, furanos y lactonas, que son responsables de olores indeseables y sabores

desagradables asociados con enranciamiento de los lípidos (Chaiyasit *et al.,* 2007; Choe y Min, 2006; Kolakowska y Sikorski, 2011; McClements, 1999; Min y Boff, 2002).

La temperatura es probablemente el factor más importante en la evaluación de la oxidación ya que los mecanismos involucrados, en especial la descomposición de hidroperóxidos, depende estrechamente de este parámetro. La eficacia antioxidante también parece ser inversamente proporcional al calor, lo que podría ser debido a la volatilización o degradación térmica de los antioxidantes lábiles a altas temperaturas. También, el exceso de calor puede ocasionar la polimerización rápida y reacciones de ciclación del sustrato lipídico que no necesariamente ocurren en las condiciones naturales. Por último, una temperatura demasiado alta puede causar el agotamiento del oxígeno dado que la solubilidad del oxígeno disminuye con el calor (Laguerre *et al.*, 2007).

#### 2.4.1 Uso de antioxidantes sintéticos

Los antioxidantes sintéticos más utilizados son compuestos fenólicos tales como hidroxianisol butilado (BHA), hidroxitolueno butilado (BHT) tert-butilhidroquinona (TBHQ) y galato de propilo (PG). Los antioxidantes sintéticos son siempre sustituidos por alquilos para mejorar su solubilidad en grasas y aceites (Hudson, 1990). Los cuatro principales antioxidantes sintéticos en uso están sometidos a un límite de buenas prácticas de fabricación de 0.02 % del contenido de grasa o aceite de la comida (Simic 1981). Los antioxidantes más adecuados para los aceites vegetales son TBHQ, BHA y BHT dado que son bastante estables al calor y a menudo se utilizan para la estabilización de grasas en productos horneados y fritos (Gülçin, 2012).

El BHT es soluble en aceites e insoluble en agua, se usa para preservar aceites vegetales y es considerado como el antioxidante más ampliamente usado en lubricantes de origen vegetal y productos alimenticios, tales como cereales, grasas comestibles, arroz y productos de confitería (Delgado *et al.*, 2015). Los materiales y productos sintéticos son más complejos en comparación con las

sustancias naturales, toma mucho tiempo para que puedan completar sus ciclos naturales y volver a la naturaleza; causando así una gran cantidad de contaminación ambiental. También, con el aumento en el precio de las materias primas, el problema de la relación costo-beneficio para la producción química es cada vez más considerable (Oliveira *et al.*, 2008).

#### 2.4.2 Uso de antioxidantes naturales

Durante la extracción, refinación y almacenamiento de los aceites, se inicia la degradación de ácidos grasos insaturados que afecta su vida útil. Además, durante la extracción y refinación se forman ácidos grasos *trans* (AGT), por ejemplo, cuando se extraen con hexano (70 °C) y acetona (55 °C) se forman 0.3 y 0.45 g 100 g<sup>-1</sup> de ácidos grasos *trans*, respectivamente. Durante la refinación en el proceso de desodorización se cuantifican un 1 %, esta cantidad depende del tipo de aceite y de la cantidad de ácidos grasos insaturados o poliinsaturados que contenga (Ariza-Ortega *et al.*, 2011). La oxidación de aceites, que ocurren durante el almacenamiento y tratamientos térmicos, no solo afectan las características organolépticas, tales como el sabor y aroma, haciéndolos inaceptables para los consumidores, sino que también influye en su valor nutritivo, de hecho la toxicidad, mutagenicidad y carcinogenidad de lípidos oxidados ha sido discutida (Ammari *et al.*, 2012).

La fortificación de aceites comestibles con antioxidantes, como la vitamina E, ha sido una práctica utilizada durante mucho tiempo para mejorar la estabilidad del aceite. Por otro lado, los compuestos fenólicos han recibido cada vez más atención porque promueven la salud humana, debido a su capacidad de interceptar los radicales libres (Sun-Waterhouse *et al.*, 2011), disminuyendo el riesgo de enfermedades degenerativas por la reducción de estrés oxidativo y la inhibición de la oxidación macromolecular. Su uso como preservación de aditivos alimentarios ha incrementado interesantemente (Oliveira *et al.*, 2008).

Los antioxidantes se han convertido en una parte esencial de la tecnología de la conservación de alimentos y el cuidado de la salud contemporánea. Es bien

conocido que las plantas poseen propiedades antioxidantes y farmacológicas que están relacionados con la presencia de compuestos fenólicos, especialmente los ácidos fenólicos y flavonoides (Gülçin, 2012). Los extractos crudos de hierbas, frutos, especias y otros materiales vegetales ricos en fenoles están incrementando el interés de la industria alimentaria porque retardan la degradación oxidativa de los lípidos y de este modo mejoran la calidad y el valor nutricional de los alimentos (Rodríguez-Carpena *et al.*, 2011).

Las sustancias naturales obtenidos a partir de desechos o subproductos de la industria agroalimentaria han atraído especial atención, dado que la eliminación de grandes cantidades de bio-residuos tienen un impacto ambiental significativo. Por otra parte, una gran cantidad de estos subproductos contienen sustancias, biológicamente activas, tales como polifenoles, estilbenos, flavonoides, etc., que pueden ser utilizados como agentes funcionales, en productos farmacéuticos, cosméticos y en industria alimentaria (Ambrogi, 2011). Existe un creciente interés en el uso de antioxidantes naturales para aplicaciones alimentarias así como una tendencia creciente en las preferencias de los consumidores hacia los antioxidantes naturales, todos esto ha dado impulso para la exploración de fuentes naturales ricas en antioxidantes (Gülçin, 2012).

## 2.4.3 Espectroscopía infrarrojo como herramienta de análisis de aceites

En las últimas décadas, la espectroscopía infrarroja con Transformada de Fourier (FTIR) ha sido utilizada ampliamente para la clasificación y la cuantificación de grasas y aceites (Jiang *et al.*, 2016 y Russin *et al.*, 2004), especialmente para la identificación cualitativa de componentes específicos en los alimentos.

El análisis de los componentes químicos del aguacate y otros alimentos se lleva a cabo usando cromatografía de gases y líquidos. Sin embargo, ésta técnica requiere una preparación de la muestra que resulta laboriosa y costosa, además se requieren columnas especiales. El empleo de la espectroscopia infrarroja tiene varias ventajas: i) no se requiere preparación de la muestra, ii) la muestra puede ser sólida, líquida, pastosa, suspensión, y gaseosa, además no se modifica ni se destruye después del análisis, iii) el análisis puede ser aislado o en línea a un proceso dinámico, es además rápido y económico y no utiliza disolventes contaminantes, iv) el análisis puede ser cualitativo y cuantitativo. En los últimos años se ha desarrollado la espectroscopia infrarrojo por Transformada de Fourier, (FTIR), lo que le da a la técnica un gran poder y rapidez en el análisis. Esta técnica analítica tiene sus bases físicas en la vibración molecular y esto ofrece muchas posibilidades en el análisis de compuestos de origen biológico (Castorena *et al.*, 2011).

Ariza-Ortega *et al.* (2011) utilizaron la técnica FTIR para el análisis de los aceites tratados con campo eléctrico y para determinar la presencia de dobles enlaces *cis* y *trans* en los aceites, dado que los resultados ayudan a estimar la composición de varios grupos funcionales de los ácidos grasos. Castorena *et al.*, (2011) identificaron los componentes de la pulpa y aceite de aguacate mediante la espectroscopia infrarroja, resaltando el potencial de la técnica en el análisis cuantitativo de enlaces asociados al contenido del aceite. Ariza-Ortega *et al.* (2014) utilizaron la FTIR para evaluar el aceite sometido a campo eléctrico para la conservación de aceite de aguacate. Ariza-Ortega *et al.* (2010) emplearon está técnica identificando una banda de absorción asociada a los ácidos grasos *trans* en muestras de aceite obtenido por centrifugación de las variedades Hass, Criollo y Fuerte.

#### 2.5 Biodiesel

Las alternativas de combustibles para motores diésel ha incrementado debido a la disminución de las reservas de petróleo y las consecuencias al medio ambiente por la emisión de gases de los motores de combustión interna (Fukuda et al., 2001 y Pérez et al., 2011). Según la definición de la ASTM, el biodiesel consiste en una mezcla de ésteres de alquilo de ácidos grasos, obtenidos a partir de aceites vegetales o grasas animales, y se utiliza como un sustituto del diésel regular (Marchetti y Errazu, 2008). En los últimos años se

han hecho muchos esfuerzos para lograr que los derivados del aceite vegetal se aproximen a las propiedades del diésel. El problema con la sustitución de los triglicéridos por el combustible diésel está asociado sobre todo con la alta viscosidad, baja volatilidad y características de poliinsaturación. Los aceites vegetales generalmente contienen ácidos grasos libres, fosfolípidos, esteroles, agua, odorantes y otras impurezas. La aplicación directa de aceites vegetales en los motores diésel puede causar muchos problemas tecnológicos tales como: la carbonización de la cámara de inyección, resistencia a la expulsión del segmento del pistón, dilución de la caja del cigüeñal, la contaminación del aceite lubricante y una atomización deficiente del combustible, asignados principalmente a su baja volatilidad y alta viscosidad, para evitar estos problemas los aceites han sido sometidos a un proceso de transesterificación para obtener biodiesel (Andrade *et al.*, 2011 y Meher *et al.*, 2006).

#### 2.5.1 Transesterificación

Comúnmente los aceites vegetales y grasas animales son ésteres de ácidos monocarboxílicos saturados e insaturados con el glicerol, estos ésteres son llamados triglicéridos (Leung et al., 2010). Mediante la transesterificación, las largas y ramificadas cadenas de moléculas de triglicéridos se transforman en monoésteres de ácidos grasos y glicerina. El proceso de transesterificación consiste de una secuencia de tres reacciones reversibles consecutivas (Figura 1) Es decir, la conversión de triglicéridos a diglicéridos, seguido por la conversión de diglicéridos a monoglicéridos.

Los glicéridos se convierten en glicerol y se obtiene una molécula de éster en cada paso. Estequiométricamente, se requieren tres moles de alcohol por cada mol de triglicérido, pero en la práctica se emplea una proporción molar superior con el fin de desplazar el equilibrio y conseguir una mayor producción de biodiesel. Aunque los ésteres son el producto deseado de la reacción de transesterificación, la recuperación de glicerina también es importante debido a sus numerosas aplicaciones en diferentes procesos industriales. Comúnmente se usan alcoholes de cadena corta como el metanol, etanol, propanol y butanol.

Figura 1. Reacción de transesterificación de los triglicéridos.

El rendimiento de la esterificación es independiente del tipo del alcohol utilizado. Por lo tanto, la eventual selección de uno de éstos tres alcoholes se basará en las consideraciones de precio y rendimiento. El metanol se utiliza comercialmente por su bajo precio. Los hidróxidos alcalinos son los más eficaces catalizadores en la transesterificación, en comparación con los catalizadores ácidos. El hidróxido de potasio y de sodio son los catalizadores alcalinos comúnmente utilizados. La transesterificación alcalina de aceites vegetales es posible sólo si el índice de acidez del aceite es inferior a 4. Porcentajes más altos de ácidos grasos libres en el aceite reducen el rendimiento del proceso de transesterificación (Ramadhas *et al.*, 2005).

## 2.5.2 Ventajas del biodiesel

Biodiesel es un combustible sintético parecido al diésel, producido a partir de aceites vegetales, grasas animales o desperdicios de aceite de cocina (Demirbas, 2009). Es biodegradable y no tóxico, con bajos perfiles de emisión y por lo tanto beneficios al medio ambiente (Ma y Hanna, 1999).

El aumento en el uso de biodiesel se atribuye al aumento constante del precio del petróleo y a los beneficios que su uso proporciona al medio ambiente: es biodegradable, tiene un alto índice de ignición y las emisiones de CO y azufre son muy bajas comparadas con el diésel. Además, proporciona una mayor lubricidad de los motores de combustión interna (Marchetti *et al.*, 2006),

En lo que respecta a la seguridad, el punto de inflamación más alto hace al biodiesel más seguro de manejar, transportar y almacenar. Los beneficios de los biocombustibles frente a los combustibles tradicionales también incluyen una mayor energía de seguridad, reducción del impacto ambiental, el ahorro de divisas, y las cuestiones socioeconómicas relacionadas con el sector rural. El uso de aceites y grasas recicladas en la producción de biodiesel también reduce muchas complicaciones relacionadas con el medio ambiente (Calero *et al.*, 2015).

El biodiesel es considerado como el mejor sustituto del diésel y puede ser utilizado puro o en mezclas biodiesel/diésel, presentando ventajas ambientales, económicas, sociales y técnicas. Entre las normas más utilizadas que rigen la calidad del biodiesel se encuentran la ASTM D 975 (American Society of Testing and Materials) y EN 590 (Norma Europea), donde establecen valores límite permitidos para cada parámetro fisicoquímico, que predicen la eficiencia del combustible en el motor (Lafont *et al.*, 2011).

#### 2.7 Referencias

Agüero, S. D., García, J. T., & Catalán, J. S. (2015). Aceites vegetales de uso frecuente en Sudamérica: características y propiedades. Nutrición Hospitalaria, 32(n01), 11-19.

Ambrogi, V., Cerruti, P., Carfagna, C., Malinconico, M., Marturano, V., Perrotti, M., & Persico, P. (2011). Natural antioxidants for polypropylene stabilization. Polymer degradation and stability, 96(12), 2152-2158.

Ammari, F., Cordella, C. B. Y., Boughanmi, N., & Rutledge, D. N. (2012). Independent components analysis applied to 3D-front-face fluorescence spectra of edible oils to study the antioxidant effect of Nigella sativa L. extract on the thermal stability of heated oils. Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems, 113, 32-42. doi:10.1016/j.chemolab.2011.06.005

Andrade, R. D., Faria, E. A., Silva, A. M., Araujo, W. C., Jaime, G. C., Costa, K. P., & Prado, A. G. (2011). Heat of combustion of biofuels mixed with fossil diesel oil. *Journal of thermal analysis and calorimetry*, *106*(2), 469-474.

- Anlauf, H. (2007). Recent developments in centrifuge technology. Separation and Purification Technology, 58(2), 242-246.
- Antolovich, M., Prenzler, P. D., Patsalides, E., McDonald, S., & Robards, K. (2002). Methods for testing antioxidant activity. Analyst, 127(1), 183-198.
- Ariza-Ortega, J. A., Díaz-Reyes, J., Robles-De-La-Torre, R. R., & Delgado-Macuil, R. J. (2010). Analysis spectroscopic by Fourier transform infrared of butter made from vegetable oil and pure cow milk subjected at thermo-oxidation processes. Journal of Materials Science and Engineering, 4(6).
- Ariza-Ortega, J. A., Delgado-Macuil, R. J., Robles-de-la-Torre, R. R., López-Valdés, F., Coyotl-Huerta, J., Ramos-Cassellis, M. E., & Soriano-Morales, A. (2011). Efecto del campo eléctrico sobre el aceite de aguacate almacenado a varios tiempos. Ingeniería Agrícola y Biosistemas, 3(2), 67-73. doi: doi: 10.5154/r.inagbi.2011.11.005
- Ariza-Ortega, J. A., Ramírez-Moreno, E., Ramos-Cassellis, M. E., & Diaz-Reyes, J. (2014). Conservación del aceite de aguacate con campo eléctrico. Revista mexicana de ingeniería química, 13(3), 705-711.
- Ashton, O. B. O., Wong, M., McGhie, T. K., Vather, R., Wang, Y., Requejo-Jackman, C., Woolf, A. B. (2006). Pigments in Avocado Tissue and Oil. J Agric Food Chem, 54(26), 10151-10158. doi: 10.1021/jf061809j
- Atabani, A. E., Silitonga, A. S., Ong, H. C., Mahlia, T. M. I., Masjuki, H. H., Badruddin, I. A., & Fayaz, H. (2013). Non-edible vegetable oils: A critical evaluation of oil extraction, fatty acid compositions, biodiesel production, characteristics, engine performance and emissions production. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 18(0), 211-245. doi: http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2012.10.013
- Bailey, P. S., & Bailey, C. A. (1998). Química Orgánica: conceptos y aplicaciones. Pearson Educación.
- Benzie, I. F. F., & Strain, J. J. (1996). The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of "Antioxidant Power": The FRAP Assay. Analytical Biochemistry, 239, 70–76.
- Berk, Z. (2009). Chapter 9 Centrifugation. In Z. Berk (Ed.), Food Process Engineering and Technology (pp. 217-232). San Diego: Academic Press.
- Berker, K. I., Ozdemir Olgun, F. A., Ozyurt, D., Demirata, B., & Apak, R. (2013). Modified Folin–Ciocalteu antioxidant capacity assay for measuring lipophilic antioxidants. Journal of agricultural and food chemistry, 61(20), 4783-4791.
- Bizimana, V., Breene, W. M., & Csallany, A. S. (1993). Avocado oil extraction with appropriate technology for developing countries. . Journal of the American Oil Chemists' Society, 70(8), 821-822. doi:10.1007/BF02542610
- Bost, J. B. (2009). Edible plants of the chinantla, oaxaca, mexico with an emphasis on the participatory domestication prospects of Persea schiedeana (Doctoral dissertation, University of Florida).

Buenrostro, M., & López-Munguia, A. C. (1986). Enzymatic extraction of avocado oil. Biotechnology Letters, Biotechnology Letters, 8(7), 505-506. doi:10.1007/BF01025210

Canapi, E. C., Agustin, Y. T. V., Moro, E. A., Pedrosa, E., & Bendaño, M. L. J. (2005). Coconut Oil Bailey's Industrial Oil and Fat Products: John Wiley & Sons, Inc.

Calero, J., Luna, D., Sancho, E. D., Luna, C., Bautista, F. M., Romero, A. A., & Verdugo-Escamilla, C. (2015). An overview on glycerol-free processes for the production of renewable liquid biofuels, applicable in diesel engines. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 42, 1437-1452.

Campos-Hernández, N., Cruz-Castillo, J. G., Hernández-Montes, A., & Rubio-Hernández, D. (2011). Aceite de frutos de Persea schiedeana en sobremaduración y cosechados de árboles en estado silvestre. Universidad y Ciencia, 27, 179-189.

Castorena, J. G., López, M. R., Macuil, R. D., & de la Torre, R. R. (2011). Análisis de Pulpa y Aceite de Aguacate con Espectroscopia Infrarroja. Conciencia Tecnológica, 42, 5-10.

Ceriani, R., Paiva, F. R., Gonçalves, C. B., Batista, E. A. C., & Meirelles, A. J. A. (2008). Densities and Viscosities of Vegetable Oils of Nutritional Value. Journal of Chemical & Engineering Data, 53(8), 1846-1853. doi: 10.1021/je800177e

Chaiyasit, W., Elias, R. J., McClements, D. J., & Decker, E. A. (2007). Role of physical structures in bulk oils on lipid oxidation. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 47(3), 299-317.

Chanderbali, A. S. S., D.E. Soltis P.S. and B.N. Wolstenholme. (2013). Taxonomy and botany. In B. Schaffer, Wolstenholme, B. N., Whiley, A. W. (Ed.), The avocado: production, botany and uses. (2nd ed., pp. 540). USA: CAB International 2013.

Choe, E., & Min, D. B. (2006). Mechanisms and factors for edible oil oxidation. Comprehensive reviews in food science and food safety, 5(4), 169-186.

Cruz-Castillo J G, P A Torres-Lima, F Rodríguez-Bracamontes, D Martínez-Pérez (2001) Adaptación de frutales caducifolios. Revisión comparativa de Guatemala y Veracruz, México. Soc. Rurales Prod. Medio Amb. 2:63-73.

Cruz-Castillo, J. G., Ángel-Coronel, O. A., Cruz-Medina, J., & Joaquín-Martínez, M. C. (2007). Carácterísticas Morfológicas y Bioquímicas de Frutos de Chinene. Revista Chapingo. Serie Horticultura, 13(2), 141-147.

Davis, J. P., Dean, L. O., Faircloth, W. H., & Sanders, T. H. (2008). Physical and Chemical Characterizations of Normal and High-Oleic Oils from Nine Commercial Cultivars of Peanut. Journal of the American Oil Chemists' Society, 85(3), 235-243. doi: 10.1007/s11746-007-1190-x

- Delgado, A. E., Palacio, O., & Aperador, W. (2015). Efecto de Butil Hidroxitolueno (BHT) en la Estabilidad Oxidativa de un Lubricante a Base de Aceite de Ajonjolí. Información tecnológica, 26(4), 81-88.
- Deng, J., Cheng, W., & Yang, G. (2011). A novel antioxidant activity index (AAU) for natural products using the DPPH assay. Food Chemistry, 125(4), 1430-1435.
- Demirbas, A. (2009). Biofuels securing the planet's future energy needs. Energy Conversion and Management, 50(9), 2239-2249.
- Diamante, L. M., & Lan, T. (2014). Absolute Viscosities of Vegetable Oils at Different Temperatures and Shear Rate Range of 64.5 to 4835 s-1. Journal of Food Processing, 2014, 1-6. doi:10.1155/2014/234583
- Dodds, E., McCoy, M., Rea, L., & Kennish, J. (2005). Gas chromatographic quantification of fatty acid methyl esters: Flame ionization detection vs. Electron impact mass spectrometry. Lipids, 40(4), 419-428. doi: 10.1007/s11745-006-1399-8
- Eromosele, C. O., & Paschal, N. H. (2003). Characterization and viscosity parameters of seed oils from wild plants. Bioresource Technology, 86(2), 203-205. doi: http://dx.doi.org/10.1016/S0960-8524(02)00147-5
- Fasina, O. O., & Colley, Z. (2008). Viscosity and Specific Heat of Vegetable Oils as a Function of Temperature: 35°C to 180°C. International Journal of Food Properties, 11(4), 738-746. doi:10.1080/10942910701586273
- Fu, L., Xu, B.-T., Xu, X.-R., Gan, R.-Y., Zhang, Y., Xia, E.-Q., & Li, H.-B. (2011). Antioxidant capacities and total phenolic contents of 62 fruits. Food Chemistry, 129(2), 345-350. doi:10.1016/j.foodchem.2011.04.079
- Fukuda, H., Kondo, A., & Noda, H. (2001). Biodiesel fuel production by transesterification of oils. *Journal of bioscience and bioengineering*, *92*(5), 405-416.
- Gallina S, S Mandujano, A Gonzalez-Romero (1996) Conservation of mammalian biodiversity in coffee plantations of Central Veracruz, Mexico. Agrofor. Syst. 33:13-27.
- Gerhard, K., & Robert, O. D. (2005). Biodiesel Industrial Uses of Vegetable Oil: AOCS Publishing.
- Gorinstein, S., Haruenkit, R., Poovarodom, S., Vearasilp, S., Ruamsuke, P., Namiesnik, J. Sheng, G. P. (2010). Some analytical assays for the determination of bioactivity of exotic fruits. Phytochem Anal, 21(4), 355-362. doi:10.1002/pca.1207
- Gülçin, I. (2012). Antioxidant activity of food constituents: an overview. *Archives of toxicology*, 86(3), 345-391.
- Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. C. (1999). The chemistry of free radicals and related 'reactive species'. Free radicals in biology and medicine, 3, 1-7.

Haminiuk, C. W. I., Plata-Oviedo, M. S. V., Guedes, A. R., Stafussa, A. P., Bona, E., & Carpes, S. T. (2011). Chemical, antioxidant and antibacterial study of Brazilian fruits. International Journal of Food Science & Technology, 46(7), 1529-1537. doi: 10.1111/j.1365-2621.2011.02653.x

Haminiuk, C. W. I., Maciel, G. M., Plata-Oviedo, M. S. V., & Peralta, R. M. (2012). Phenolic compounds in fruits – an overview. International Journal of Food Science & Technology, 47(10), 2023-2044. doi: 10.1111/j.1365-2621.2012.03067.x

Harborne, A. J. (1998). Phytochemical methods a guide to modern techniques of plant analysis. Springer Science & Business Media.

Harwood, J. L., & Scrimgeour, C. M. (2007). Fatty Acid and Lipid Structure The Lipid Handbook with CD-ROM, Third Edition (pp. 1-36): CRC Press.

Herrera-Tenorio, M.; Montiel-Flores, A.; López de Jesús, S. T. 2005. El chinene, Persea schiedeana Nees, en la región centro del estado de Veracruz. XVIII Reunión Científica, Tecnológica, Forestal y Agropecuaria. Memorias (CD-ROM). Boca del Río, Veracruz. México.

Honary, L. (2010). Industrial oil types and uses. In B. P. Singh (Ed.), Industrial Crops and Uses (pp. 522). Oxfordshire, UK: CAB International.

Huang, D., Ou, B., & Prior, R. L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. Journal of agricultural and food chemistry, 53(6), 1841-1856.

Hudson, B. J. F. (1990). Food antioxidants, edited by BJF Hudson. Applied food science series.

Human, T. P. (1987). Oil as a byproduct of the avocado. Paper presented at the Proceedings of the First World Avocado Congress.

Jácome-Rincón, J., Cruz-Castillo, J. G., Guerra-Ramirez, D., Espinoza-Solares, T. (2014). Caracterización fisicoquímica de frutos de Persea schiedeana Nees de la región de Huatusco, Veracruz. Universidad Autónoma Chapingo

Jiang, X., Li, S., Xiang, G., Li, Q., Fan, L., He, L., & Gu, K. (2016). Determination of the acid values of edible oils via FTIR spectroscopy based on the O< img border=. Food Chemistry, 212, 585-589.

Jiménez, M. E., Aguilar, M. R., Zambrano, M. L., & Kolar, E. (2001). Propiedades físicas y químicas del aceite de aguacate obtenido de puré deshidratado por microondas. Journal of the Mexican Chemical society, 45(2), 89-92.

Kelly, L., & Ching Kuang, C. (2007). Fatty Acid Classification and Nomenclature Fatty Acids in Foods and their Health Implications, Third Edition (pp. 1-15): CRC Press.

Kevin, S., & David, S. N. (2003). The Nomenclature, Structure, and Properties of Food Lipids Chemical and Functional Properties of Food Lipids: CRC Press.

- Kolakowska, A., & Sikorski, Z. Z. E. (2011). Chemical, Biological, and Functional Aspects of Food Lipids.
- Kopp, L. E. (1966). A taxonomic revision of the genus Persea in the western hemisphere (Persea-Lauraceae). (Doctor of Philosophy), Columbia University, New York. (v. 14, no. 1)
- Kosinska, A., Karamac, M., Estrella, I., Hernandez, T., Bartolome, B., & Dykes, G. A. (2012). Phenolic compound profiles and antioxidant capacity of Persea americana Mill. peels and seeds of two varieties. J Agric Food Chem, 60(18), 4613-4619. doi:10.1021/jf300090p
- Lafont, J. J., & Portacio, A. A. (2011). Extracción y Caracterización Fisicoquímica del Aceite de la Semilla (Almendra) del Marañón (Anacardium occidentale L). Información tecnológica, 22(1), 51-58.
- Laguerre, M., Lecomte, J., & Villeneuve, P. (2007). Evaluation of the ability of antioxidants to counteract lipid oxidation: Existing methods, new trends and challenges. Progress in lipid research, 46(5), 244-282.
- Landucci, G., Pannocchia, G., Pelagagge, L., & Nicolella, C. (2013). Analysis and simulation of an industrial vegetable oil refining process. Journal of Food Engineering, 116(4), 840-851. doi:10.1016/j.ifoodeng.2013.01.034
- Leung, D. Y., Wu, X., & Leung, M. K. H. (2010). A review on biodiesel production using catalyzed transesterification. Applied energy, 87(4), 1083-1095.
- Levine, F., Kayea Iii, R., Wexler, R., Sadvary, D. J., Melick, C., & La Scala, J. (2014). Heats of Combustion of Fatty Acids and Fatty Acid Esters. Journal of the American Oil Chemists' Society, 91(2), 235-249. doi: 10.1007/s11746-013-2367-0
- López-López, L., Barrientos-Priego, A. F., & Ben-Ya'acov, A. D. (1999). Variabilidad genética de los bancos de germoplasma de aguacate preservados en el estado de méxico. Revista Chapingo Serie Horticultura, 5, 19-23.
- Lucie, P., & Pokorny, J. (2002). Plant Lipids and Oils Chemical and Functional Properties of Food Lipids: CRC Press.
- Ma, F., & Hanna, M. A. (1999). Biodiesel production: a review. Bioresource technology, 70(1), 1-15.
- Mancuso, J. R., McClements, D. J., & Decker, E. A. (1999). The effects of surfactant type, pH, and chelators on the oxidation of salmon oil-in-water emulsions. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 47(10), 4112-4116.
- Marchetti, J. M., & Errazu, A. F. (2008). Esterification of free fatty acids using sulfuric acid as catalyst in the presence of triglycerides. *Biomass and Bioenergy*, 32(9), 892-895.
- Meher, L. C., Sagar, D. V., & Naik, S. N. (2006). Technical aspects of biodiesel production by transesterification—a review. *Renewable and sustainable energy reviews*, 10(3), 248-268.

- Min, D. B., & Boff, J. M. (2002). Lipid oxidation of edible oil. Food science and technology-New York-Marcel Dekker-, 335-364.
- Mostert, M. E., Botha, B. M., Plessis, L. M. D., & Duodu, K. G. (2007). Effect of fruit ripeness and method of fruit drying on the extractability of avocado oil with hexane and supercritical carbon dioxide. Journal of the Science of Food and Agriculture, 87(15), 2880-2885. doi: 10.1002/jsfa.3051
- Nielsen, S. (2010). Food Analysis (Fourth Edition ed.). New York, USA.: Springer Science+Business Media.
- O'Brien, R. (2004). Fats and oils: formulating and processing for applications (Vol. 1). Florida, United States of America: CRC Press LLC.
- O'Keefe, S., & Pike, O. (2010). Fat Characterization. In S. S. Nielsen (Ed.), Food Analysis (pp. 239-260): Springer US.
- Oliveira, I., Sousa, A., Ferreira, I. C., Bento, A., Estevinho, L., & Pereira, J. A. (2008). Total phenols, antioxidant potential and antimicrobial activity of walnut (Juglans regia L.) green husks. Food and chemical toxicology, 46(7), 2326-2331.
- Moreno, A. O., Dorantes, L., Galíndez, J., & Guzmán, R. I. (2003). Effect of different extraction methods on fatty acids, volatile compounds, and physical and chemical properties of avocado (Persea americana Mill.) oil. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51(8), 2216-2221.
- Ortiz, M. A., Dorantes, A. L., Gallndez, M. J., & Cardenas, S. E. (2004). Effect of a novel oil extraction method on avocado (Persea americana Mill) pulp microstructure. Plant Foods for Hum Nutrution, 59(1), 11-14.
- Pérez, D. E. A., Ramírez, C. A. T., & Plazas, J. P. (2011). Caracterización de las propiedades del biodiesel de girasol bajo la Norma NTC de 100/04 y medición de poder calorífico. *AVANCES Investigación en Ingeniería*, 8(2), 73-80.
- Pietta, P. G. (2000). Flavonoids as antioxidants. Journal of natural products, 63(7), 1035-1042.
- Rácz, A., Papp, N., Balogh, E., Fodor, M., & Héberger, K. (2015). Comparison of antioxidant capacity assays with chemometric methods. Analytical Methods, 7(10), 4216-4224.
- Rafiq, M., Lv, Y. Z., Zhou, Y., Ma, K. B., Wang, W., Li, C. R., & Wang, Q. (2015). Use of vegetable oils as transformer oils—a review. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 52, 308-324.
- Ramadhas, A. S., Jayaraj, S., & Muraleedharan, C. (2005). Biodiesel production from high FFA rubber seed oil. Fuel, 84(4), 335-340. doi: http://dx.doi.org/10.1016/j.fuel.2004.09.016
- Ratnayake, W., & Zehaluk, C. (2005). Trans Fatty Acids in Foods and Their Labeling Regulations. In C. C. Akoh & O. M. Lai (Eds.), Healthful Lipids. Illinois, USA.: AOCS Press.

Rendón-Cantillano, J. L. (2003). Caracterización física y química del fruto y del aceite de sucte (Persea schiedeana). (Ingeniero en Agroindustria), Escuela Agrícola Panamericana Zamorano, Honduras.

Rice-Evans, C. A., Miller, N. J., & Paganga, G. (1996). Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. Free radical biology and medicine, 20(7), 933-956.

Richard, D., Kefi, K., Barbe, U., Bausero, P., & Visioli, F. (2008). Polyunsaturated fatty acids as antioxidants. Pharmacological Research, 57(6), 451-455. doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.phrs.2008.05.002

Rodenbush, C. M., Hsieh, F. H., & Viswanath, D. S. (1999). Density and viscosity of vegetable oils. Journal of the American Oil Chemists' Society, 76(12), 1415-1419. doi: 10.1007/s11746-999-0177-1

Rodriguez-Carpena, J. G., Morcuende, D., Andrade, M. J., Kylli, P., & Estevez, M. (2011). Avocado (Persea americana Mill.) phenolics, in vitro antioxidant and antimicrobial activities, and inhibition of lipid and protein oxidation in porcine patties. J Agric Food Chem, 59(10), 5625-5635. doi:10.1021/jf1048832

Rotta, E. M., de Morais, D. R., Biondo, P. B. F., dos Santos, V. J., Matsushita, M., & Visentainer, J. V. (2016). Use of avocado peel (Persea americana) in tea formulation: a functional product containing phenolic compounds with antioxidant activity. Acta Scientiarum. Technology, 38(1), 23-29. doi:.org/10.4025/actascitechnol.v38i1.27397

Russin, T. A., van de Voort, F. R., & Sedman, J. (2004). Rapid determination of oxidative stability of edible oils by FTIR spectroscopy using disposable IR cards. Journal of the American Oil Chemists' Society, 81(2), 111-116.

Sadat, A., & Khan, I. A. (2007). A novel technique for the measurement of liquid viscosity. Journal of Food Engineering, 80(4), 1194-1198. doi: http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2006.09.009

Sánchez C S, L López, I I Aguilar, J C P Mejía (1989) Análisis físico y bromatológico de selecciones de aguacate (Persea americana Mill) obtenidas por CICTAMEX. Memoria Fundación Salvador Sánchez Colín-CICTAMEX. pp:117-127.

Scora, R. W., & Scora, P. E. (2000). Essential oils of Persea subgenus Persea (Lauraceae). Journal of Essential Oil Research, 12(6), 709-713.

Seppänen-Laakso, T., Laakso, I., & Hiltunen, R. (2002). Analysis of fatty acids by gas chromatography, and its relevance to research on health and nutrition. Analytica Chimica Acta, 465(1–2), 39-62. doi: <a href="http://dx.doi.org/10.1016/S0003-2670(02)00397-5">http://dx.doi.org/10.1016/S0003-2670(02)00397-5</a>

Shahidi, F., & Zhong, Y. (2015). Measurement of antioxidant activity. Journal of Functional Foods, 18, 757-781.

- Sharmin, E., Zafar, F., Akram, D., Alam, M., & Ahmad, S. (2015). Recent advances in vegetable oils based environment friendly coatings: A review. Industrial Crops and Products, 76, 215-229.
- Schieber, E., & Zentmyer, G. A. (1977). Collecting Persea schiedeana in Guatemala [for use as Phytophthora-resistant rootstock for the avocado]. Yearbook-California Avocado Society (USA).
- Simic, M. G. (1981). Free radical mechanisms in autoxidation processes. J. Chem. Educ, 58(2), 125.
- Smith, N. J. H., Williams, J.T., Plucknett, D.L. and Talbot, J.P. (1992). Tropical Forests and Their Crops. Ithaca, New York: Cornell University Press.
- Soobrattee, M. A., Neergheen, V. S., Luximon-Ramma, A., Aruoma, O. I., & Bahorun, T. (2005). Phenolics as potential antioxidant therapeutic agents: mechanism and actions. Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis, 579(1), 200-213.
- Soong, Y.-Y., & Barlow, P. J. (2004). Antioxidant activity and phenolic content of selected fruit seeds. Food Chemistry, 88(3), 411-417. doi: http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.02.003
- Standley, P. C., & Steyermark, J. A. (1946). Flora of Guatemala (Vol. 24, Part IV). USA: Chicago Natural History Museum.
- Sun-Waterhouse, D., Thakorlal, J., & Zhou, J. (2011). Effects of added phenolics on the storage stability of avocado and coconut oils. International Journal of Food Science & Technology, 46(8), 1575-1585. doi:10.1111/j.1365-2621.2011.02655.x
- Tabart, J., Kevers, C., Pincemail, J., Defraigne, J. O., & Dommes, J. (2009). Comparative antioxidant capacities of phenolic compounds measured by various tests. Food Chemistry, 113(4), 1226-1233.
- Villa-Rodríguez, J. A., Molina-Corral, F. J., Ayala-Zavala, J. F., Olivas, G. I., & González-Aguilar, G. A. (2011). Effect of maturity stage on the content of fatty acids and antioxidant activity of 'Hass' avocado. Food Research International, 44(5), 1231-1237.
- Wang, W., Bostic, T. R., & Gu, L. (2010). Antioxidant capacities, procyanidins and pigments in avocados of different strains and cultivars. Food Chemistry, 122(4), 1193-1198. doi:10.1016/j.foodchem.2010.03.114
- Werman, M. J. N., I. (1987). Avocado oil production and chemical characteristics. Journal of Analysis Oil Chemist's Society, Journal of Analysis Oil Chemist's Society, 229-232
- Zentmyer, G. A., Schieber, E., & Guillemet, F. B. (1988). History of the Martin Grande rootstock. California Avocado Society yearbook (USA).
- Zulueta, A., Esteve, M. J., & Frígola, A. (2009). ORAC and TEAC assays comparison to measure the antioxidant capacity of food products. Food Chemistry, 114(1), 310-316

# III PROPIEDADES NUTRICIONALES Y NUTRACÉUTICAS DE FRUTOS DE Persea schiedeana Nees

## NUTRICIONAL AND NUTRACEUTICAL PROPERTIES IN Persea schiedeana Nees FRUITS

#### RESUMEN

Actualmente existe un creciente interés en investigar los frutos silvestres para encontrar sus posibles usos, beneficios a la salud, fomentar su consumo v producción. Tres accesiones de frutos de P schiedeana denominadas como Ixpila (Ixp), Michapa 1 (M1) y Michapa 2 (M2) colectadas en el municipio de Huatusco, Veracruz, fueron caracterizadas físicamente, asimismo, determinaron sus propiedades nutricionales y nutracéuticas. Las propiedades nutricionales se evaluaron mediante el análisis proximal de la pulpa y las propiedades nutracéuticas fueron determinadas en cada una de las partes del fruto cuantificando fenoles y flavonoides totales y la capacidad antioxidante mediante los ensayos ABTS, DPPH y FRAP. El peso total del fruto osciló en el intervalo de 227.23 ± 42.50 y 264.40 ± 42.59 g. El peso de la pulpa se encontró en el intervalo de 93.42 ± 19.51 a 105.57 ± 16.72 g sin diferencias significativas entre accesiones. El análisis proximal demostró que el contenido de humedad fue el componente principal siendo superior en los frutos M1 (65.68 ± 0.00), el extracto etéreo en base seca fue el segundo componente donde los frutos Ixp presentaron mayor porcentaje (40.97 ± 0.11 en base seca). La cáscara de todos los frutos presentó el mayor contenido de fenoles totales (30.79 ± 0.99  $mg EAG g_{bs}^{-1}$ ). Con respeto a la capacidad antioxidante por los ensayos ABTS, DPPH y FRAP se obtuvieron los siguientes resultados: 164.56 ± 2.41, 100.34 ± 5.68 y 80.63  $\pm$  1.32  $\mu$ mol ET  $g_{bs}^{-1}$ , respectivamente. Los resultados de este estudio demuestran que las propiedades nutricionales de P. schiedeana pueden ser benéficas para los consumidores y que la cáscara es una fuente de antioxidantes con uso potencial en la industria alimentaria.

**Palabras clave:** Capacidad antioxidante, fenoles totales, flavonoides totales, *Persea schiedeana*.

Autor: Anallely López Yerena

Director de Tesis: Dr. Juan Guillermo Cruz Castillo

Tesis de Maestría en Ciencias en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria, Universidad Autónoma Chapingo

## **ABSTRACT**

Nowadays there is growing interest in research the wild fruits to find their potential uses, health benefits, encourage consumption and production. Three accessions of fruits of P schiedeana to as Ixpila (Ixp), Michapa 1 (M1) and Michapa 2 (M2) collected in the municipality of Huatusco, Veracruz, were physically characterized also nutritional and nutraceutical properties were determined. To evaluate the nutritional properties of pulp a proximal analysis was performed: nutraceutical properties were evaluated in each of the parts of the fruit by quantified total phenol, flavonoids and antioxidant capacity using the ABTS, DPPH and FRAP assays. The total fruit weight ranged from 227.23 ±  $42.59-264.40 \pm 42.59$  q, pulp  $93.42 \pm 19.51$  a  $105.57 \pm 16.72$  q without significant differences. Proximate analysis showed that moisture was the main component being M1 fruits (65.68 ± 0.00) those presenting significant difference  $(p \le 0.05)$ ; the ethereal extract was the second component where Ixpila fruits showed higher percentage (40.97 ± 0.11 bs). Peel all fruits showed higher content of total phenols and antioxidant capacity than seed, pericarp and pulp (p. ≤ 0.05). The peel of M1 fruit showed significant difference in phenolic content  $(30.79 \pm 0.99 \text{ mg GAE g}_{bs}^{-1})$  as well as the antioxidant capacity by ABTS, DPPH and FRAP (164.56  $\pm$  2.41, 100.34  $\pm$  5.68 and 80.63  $\pm$  1.32  $\mu$ mol TE  $g_{hs}^{-1}$ , respectively). The results of this study show that the nutritional properties of P. schiedeana can be beneficial for consumers and the peel is a source of antioxidants with potential use in the food industry.

**Keywords:** antioxidant capacity, total phenolics, flavonoids, *Persea schiedeana* Nees.

#### 3.1 INTRODUCCIÓN

Persea schiedeana Nees de la familia Lauraceae es un árbol frutal nativo de Mesoamérica que se distribuye desde México hasta Panamá. Es poco conocido en las zonas urbanas, y su número se ha reducido debido al establecimiento de plantaciones de café y de otros cultivos en el estado de Veracruz (Cruz-Castillo et al., 2007). La pulpa del fruto, conocido comúnmente como chinene, se reconoce en la región central de Veracruz como un alimento que ayuda a mejorar la digestión (Campos-Hernández et al., 2011), la pulpa es fibrosa y de textura similar a la del aguacate (*P. americana* Mill) (Rendón-Cantillano, 2003). En general, los estudios relacionados con el fruto de *P. schiedeana* son escasos (Bost et al., 2013). A la fecha se ha investigado el ataque del coleóptero Heilipus lauri que barrena al fruto (Castañeda-Vildózola et al., 2009);

en los frutos provenientes de árboles que crecen en la República de El Salvador se determinó el contenido mineral (Munsell *et al.*, 1950); la madurez y cambios fisicoquímicos en postcosecha (Del Ángel-Coronel *et al.*, 2010); la caracterización física de los frutos de *P. schiedeana*, peso, morfología, dimensiones, color de la pulpa y de la cáscara, así como su composición en términos de materia seca, fibra y aceite fueron estudiadas por Cruz-Castillo *et al.* (2007) y Joaquín-Martínez *et al.* (2007). Las características físicas y químicas del aceite y la composición de sus ácidos grasos han sido estudiadas tanto en Honduras (Rendón-Cantillano, 2003) como en México (Cruz-Castillo *et al.*, 2007; Joaquín-Martínez *et al.*, 2007), sin embargo las propiedades nutracéuticas de los frutos, basadas en el contenido de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante no han sido evaluadas.

El concepto de antioxidante biológico se refiere a cualquier compuesto que, cuando está presente en una concentración inferior en comparación con la de un sustrato oxidable, es capaz de retrasar o prevenir la oxidación del sustrato (Pisoschi & Pop, 2015). Varios estudios clínicos y epidemiológicos han demostrado que el consumo de alimentos ricos en antioxidantes naturales como frutas y hortalizas son benéficos para la salud debido a su capacidad para evitar enfermedades del corazón y cáncer, cataratas, degeneración macular y enfermedades neurológicas (Corral-Aguayo *et al.*, 2008).

En años recientes, diversos metodologías *in vitro* han sido propuestas para determinar la capacidad total antioxidante de frutas, vegetales y bebidas (Henríquez *et al.*, 2011). La capacidad antioxidante equivalente de trolox (TEAC) puede evaluarse mediante los ensayos ácido (2,2-azino-bis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) ABTS como oxidante, el ensayo del poder antioxidante reductor del ion fierro (FRAP), potencial de captación de radicales libres DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil), la capacidad de absorción de radicales de oxígeno (ORAC) y el total de absorción de radicales potenciales (TRAP), (Ozgen, *et al.*, 2006). El objetivo de este estudio fue caracterizar fisicoquímicamente los frutos de *P. schiedeana* colectados en dos comunidades

del municipio de Huatusco, Veracruz para determinar si existen diferencias en la calidad de los frutos de diferentes árboles, relacionadas con sus propiedades nutricionales y nutracéuticas.

## 3.2 MATERIALES Y MÉTODOS

## 3.2.1 Material vegetal

Los frutos de *P. schiedeana* fueron colectados al azar, en agosto de 2015 en estado de madurez fisiológica, en las comunidades de Ixpila y Michapa del municipio de Huatusco, Veracruz, entre 1060 y 1080 msnm. Los árboles se encontraban sin manejo agronómico, tenían una altura aproximada de 15 a 20 m. Los frutos Ixpila presentaron cáscara color verde, mientras que en los frutos M1 y M2 tenían color morado.

#### 3.2.2 Caracterización física de frutos

Para la evaluación física fueron seleccionados al azar seis frutos frescos de cada colecta. La pulpa, cáscara y semilla fueron pesadas en una balanza digital (OHAUS CS2000). Asimismo, las dimensiones del fruto fueron determinadas con un vernier digital (IPGRI, 1995).

### 3.2.3 Análisis proximal

El análisis proximal de tres frutos de cada colecta, elegidos al azar, se llevó a cabo de acuerdo al sistema Wendee ideado por Henneberg y Stohmann (1967), los parámetros determinados fueron porcentaje de humedad total, materia seca total, cenizas, proteína cruda, extracto etéreo y fibra cruda.

## 3.2.4 Evaluación de la capacidad antioxidante

## Preparación de extractos

La cáscara, semilla, pericarpio y pulpa de cada una de las colectas de los frutos de chinene fueron separados, molidos y liofilizados siguiendo el método de Shofian *et al.* (2011) a temperatura de -44 °C, presión de 17 x 10<sup>-3</sup> mBar, durante 96 h en un liofilizador Labconco 77510 00.

De cada una de las partes del fruto de *P. Schiedeana* previamente liofilizada y desengrasada (solo en el caso de la pulpa) se obtuvieron los extractos de acuerdo con la metodología de Wang *et al.* (2010) con modificaciones. La muestra (1 g) fue suspendida en 10 mL de una mezcla de metanol/agua (4:1 v/v de), el pH se ajustó a 3.0 con ácido clorhídrico HCl al 10 %, después se agitó en vortéx (5 min, a 3000 rpm, Vortéx synergy, WVR International) y se sometió a sonicación por 15 min (Ultrasonic Cleaner 8890, Cole Parmer). Posteriormente se agitó (30 min, 30 °C) en una incubadora (Orbital Prendo INO-650 M) y finalmente la mezcla fue centrifugada (1277 g, 15 min) (SOLBAT J-600, México). Los sobrenadantes fueron recuperados y aforados a 10 mL con el disolvente empleado para la extracción, conservándose en frascos ámbar y refrigerados (-21 °C) para el análisis posterior de fenoles y flavonoides totales y capacidad antioxidante. Cada muestra se procesó por triplicado.

#### Determinación de fenoles totales

El contenido de fenoles totales (CFT) fue determinado por el método de Folin-Ciocalteu adaptado a microplacas (Singleton y Rossi, 1965). Microplacas de 96 pozos fueron utilizadas para llevar a cabo la reacción, en cada pozo se colocaron: una alícuota de la muestra a analizar, con la dilución adecuada o de curva estándar (25 μL), agua destilada (125 μL), el reactivo de Folin-Ciocalteu diluido 1:10 con agua destilada (20 μL) y finalmente se agregó Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> al 20 % (30 μL). La mezcla fue agitada y se dejó reposar durante 30 min en ausencia de luz, la absorbancia frente al blanco fue medida a 765 nm en un lector de microplacas multidetector con inyectores Synergy® HT equipado con el software Gen5 de análisis de datos (Biotek Instruments Inc., Winoosky, VT, USA). La ecuación obtenida de la curva fue utilizada para determinar la concentración de fenoles totales en la muestra. Los resultados fueron expresados como miligramos equivalentes de ácido gálico por gramo de

muestra en base seca (mg EAG g $_{bs}^{-1}$ ) la curva de calibración del ácido gálico se preparó en un rango de concentración de 0.001 a 0.01 mgmL $^{-1}$ .

#### Determinación de flavonoides

Los flavonoides totales fueron determinados de acuerdo al procedimiento de Kubola & Siriamornpun (2011) adaptado a microplacas. 0.5 mL de muestra se mezclaron con agua destilada (2.5 mL) y NaNO $_2$  al 5 % (0.15 mL). Después de 5 min, se agregaron 0.3 mL de AlCl $_3$ ·6H $_2$ O (10 %). La mezcla se dejó reposar durante 5 min y enseguida se agregó 1 mL de NaOH (5 %); las muestras fueron agitadas en vortex (3,000 rpm, 3 min). Finalmente se transfirieron 200 µL de cada muestra a los pozos de la microplaca y se midió la absorbancia a 510 nm en un lector de microplacas. Las mediciones se hicieron por cuadruplicado. Los resultados fueron expresados como miligramos equivalentes de catequina por gramo de muestra en base seca (mgEC  $g_{bs}^{-1}$ ). La ecuación obtenida de la curva de calibración de catequina fue utilizada para determinar la concentración de flavonoides totales en las muestras. El intervalo de la curva de calibración de catequina fue de 0 a 130.18 µM.

## **Ensayo ABTS**

El ensayo ABTS descrito por Re *et al.* (1999) adaptado a microplacas fue utilizado para medir la capacidad antioxidante en extractos de frutos de chinene. La disolución ABTS<sup>+</sup> se generó por la reacción de ABTS (7.4 mM) y persulfato de sodio (2.6 mM). Esta disolución se dejó reposar durante 16 h y finalmente fue diluida para obtener una absorbancia entre 0.7 y 1.2, para lo cual se tomaron 600 μL y se aforaron a 10 mL con metanol. Posteriormente, en los pozos de la microplaca se mezclaron 20 μL de muestra o curva patrón y 180 μL de la disolución ABTS-+. Como blanco se emplearon 200 μL de la disolución ABTS-+. La microplaca se agitó y la mezcla de reacción se dejó reposar durante 10 min protegida de la luz, finalmente la absorbancia fue medida a 734 nm en el lector de microplacas. Las mediciones se hicieron por cuadruplicado. Los resultados se expresaron como micromoles equivalentes de Trolox por gramo

de muestra en base seca ( $\mu mol\ ET\ g_{bs}^{-1}$ ). La ecuación obtenida de la curva de calibración de Trolox fue utilizada para determinar la capacidad antioxidante de las muestras. El intervalo de la curva de calibración de Trolox fue de 4.99 a 59.93  $\mu M$ .

## **Ensayo DPPH**

La capacidad de atrapamiento de radicales libres en extractos de chinene se midió utilizando el ensayo DPPH descrito por Cheng *et al.* (2006) adaptado a microplacas. En los pozos de la microplaca fueron mezclados 200  $\mu$ L de una serie de diluciones de los extractos del fruto en un intervalo de concentraciones de 0.99 a 34.05 mg mL<sup>-1</sup> y 50  $\mu$ L de disolución de DPPH (0.099 mM). Como blanco se empleó metanol al 80 % (250  $\mu$ L) y como control una mezcla de metanol al 80 % (200  $\mu$ L) y DPPH 0.099 mM (50  $\mu$ L). La curva estándar de Trolox tuvo una concentración entre 7.37 y 34.51  $\mu$ M. La microplaca fue agitada y conservada en oscuridad durante 30 min y la absorbancia se midió a 515 nm en el lector de microplacas. El porcentaje de DPPH degradado fue determinado de acuerdo a la siguiente ecuación y fue expresada como micromoles equivalentes de Trolox por gramo de muestra en base seca ( $\mu$ mol ET  $g_{bs}^{-1}$ ). El intervalo de la curva de calibración de Trolox fue de 7.67 a 34.51  $\mu$ M.

% DPPH 
$$\frac{A_{\text{degradado}}}{A_{\text{control}} - A_{\text{blanco}}} \times 100$$

Donde  $A_{\text{muestra}}$ ,  $A_{\text{blanco}}$ ,  $A_{\text{control}}$  representa la absorbancia del antioxidante de referencia o de la muestra, blanco y el control. El porcentaje de reducción del DPPH fue graficado contra las concentraciones de las muestras y la concentración inhibitoria 50 (CI<sub>50</sub>) fue calculada de la ecuación de regresión obtenida. Las determinaciones fueron llevadas a cabo por cuadruplicado.

## **Ensayo FRAP**

El ensayo FRAP descrito por Benzie & Strain (1996) adaptado a microplacas fue utilizado para medir el poder reductor de los extractos de frutos de chinene.

Se prepararon las siguientes disoluciones: buffer pH 3.6 (4.624 g de  $C_2H_3NaO_2$ ' $3H_2O$  y 18.2 mL  $C_2H_4O_2$ ), TPTZ (2, 4, 6 Tripiridil-s-triazina) 10 mM en HCl 40 mM y disolución FeCl $_3$ ' $3H_2O$  20 mM. La disolución FRAP fue preparada al momento de su uso mezclando en proporción 10:1:1 la solución buffer, solución TPTZ y FeCl $_3$ ' $3H_2O$ . En una microplaca de 96 pozos se colocaron 20  $\mu$ L de extracto o de la curva de Trolox, 180  $\mu$ L de la disolución FRAP y 60  $\mu$ L de agua destilada, como blanco fueron inyectados 200  $\mu$ L de la disolución FRAP y 60  $\mu$ L de agua destilada,. Después de 30 s se midió la absorbancia a 600 nm en el lector de microplacas. Las mediciones se realizaron por cuadruplicado. Los resultados se expresaron como micromoles equivalentes de Trolox por gramo de muestra en base seca ( $\mu$ mol ET  $g_{bs}^{-1}$ ). La ecuación obtenida de la curva de calibración de Trolox fue utilizada para determinar la capacidad antioxidante de las muestras. El intervalo de la curva de calibración de Trolox fue de 3.84 a 46.10  $\mu$ M.

#### 3.2.5 Análisis estadístico

Los experimentos se condujeron de acuerdo a un diseño completamente al azar con los tratamientos y repeticiones descritas previamente. Aplicándose análisis de varianza y comparación de medias de tratamientos (Tukey, 0.05) mediante el paquete estadístico SAS (versión 9.4).

### 3.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.3.1 Caracterización física de frutos

En el Cuadro 2 se muestran los promedios de todas las variables medidas a los frutos de chinene, donde se observaron frutos con pesos entre 225.12  $\pm$  30.41 y 264.40  $\pm$  42.59 g sin diferencias significativas entre las colectas ( $p \le 0.05$ ), al igual que en el contenido de pulpa (93.42  $\pm$  19.51 y 105.57  $\pm$  16.72 g), sin embargo, los frutos lxp se caracterizaron por tener semilla y cáscara con mayor peso que los frutos de las otras colectas. Valores similares fueron encontrados en los pesos de los fruto y pulpa (254.7  $\pm$  33.4, 106.4  $\pm$  10.4 g,

respectivamente) de la región central de estado de Veracruz (Cruz-Castillo *et al.* 2007).

Cuadro 2. Pesos frescos de frutos de *P. schiedeana de* Huatusco, Veracruz (g).

	Accesión				
	Ixp	M1	M2		
Fruto	264.40 a ± 42.59	225.12 a ± 30.41	227.23 a ± 42.50		
Pulpa	93.42 a ± 19.51	105.57 a ± 16.72	98.08 a ± 23.27		
Semilla	111.23 a ± 13.90	72.31 ab ± 17.14	84.76 b ± 16.80		
Cáscara	59.75 a ± 16.03	47.23 b ± 4.43	44.38 b ± 3.87		

Valores con la misma letra dentro de filas son estadísticamente iguales con base a la prueba de Tukey ( $p \le 0.05$ )  $\pm$  desviación estándar.

Los frutos de mayor longitud corresponden a lxp (Cuadro 3) caracterizándose por ser medio rugosos, de forma claviforme de cuello largo, menor al reportado por Joaquín-Martínez et al. (2007) en frutos de Catemaco (18.4 cm) y mayor a frutos de la región central del estado de Veracruz (Cruz-Castillo et al., 2007). Los frutos M1 se caracterizaron por ser medio rugosos, pequeños, sin cuello alargado y ovalados, con mayor diámetro al reportado por Cruz-Castillo et al. (2007) y en frutos de la región de los Tuxtlas, Veracruz 4.8, 5.4 y 5.1 cm (Joaquín-Martínez et al., 2007).

Cuadro 3. Longitud y diámetro de frutos de *P. schiedeana* de Huatusco, Veracruz (cm).

Áccesión Longitud		Diámetro		
Ixp	17.53 a ± 2.33	6.30 ab $\pm 0.34$		
M1	12.71 b ± 0.85	$6.52 a \pm 0.32$		
M2	$14.09 b \pm 0.89$	$5.98 b \pm 0.35$		

Valores con la misma letra dentro de columnas son estadísticamente iguales con base a la prueba de Tukey ( $p \le 0.05$ )  $\pm$  desviación estándar.

## 3.3.2 Análisis proximal

El análisis proximal de los frutos de chinene mostró que el extracto etéreo (bs), luego de la humedad fueron los componentes mayoritarios en la pulpa de chinene (Cuadro 4), donde los frutos M1 presentaron mayor contenido de humedad (65.68 %). Los frutos Ixp presentaron mayor contenido de aceite, fibra cruda y extracto libre de nitrógeno (40.97, 3.38 y 16.62 %, respectivamente). Joaquín-Martínez *et al.* (2007) reportaron frutos con menor contenido de humedad en comparación a los frutos M1 y M2 (39.6-47.9 %), los lípidos obtenidos en los frutos Ixp son mayores a lo reportado por los mismos autores (24.7-36.0 %). Los frutos de todas las accesiones evaluadas en este trabajo presentaron menor contenido de fibra (17.6-32.0 %).

El contenido de humedad en chinene es menor que en aguacate variedad Hass, Fuerte y Hass 73.8, 78.24 y 77.3 %, respectivamente (Ariza-Ortega *et al.*, 2011; Bora *et al.*, 2001 y Ortiz *et al.*, 2004). Además, éstos autores encontraron menor contenido de extracto etéreo (15.30, 15.39 y 15.8 %, respectivamente). Los frutos de chinene obtuvieron mayor contenido de fibra cruda al reportado por los autores (0.51, 0.53 y 0.40 %, respectivamente). El contenido de cenizas (1.5 %) fue mayor en la variedad Hass (Ariza-Ortega *et al.*, 2011). Con respecto a los parámetros evaluados en los frutos de chinene de las tres accesiones (Cuadro 4), los frutos de aguacate Hass presentaron mayor contenido de humedad y cenizas 71.9 y 2.41 %, respectivamente y menor contenido de extracto etéreo 17.11 % (Restrepo *et al.*, 2012).

Cuadro 4. Análisis proximal de frutos de *P. schiedeana* de Huatusco, Veracruz.

Determinaciones (%)	Ixp	M1	M2	
Humedad	36.03 c ± 0.01	65.68 a ± 0.00	51.67 b ± 0.00	
Cenizas	1.08 b ± 0.11	$0.68 c \pm 0.02$	1.25 a ± 0.08	
Proteína cruda	1.91 b ± 0.02	1.13 c ± 0.22	2.04 a ± 0.11	
Extracto etéreo	40.97 a ± 0.11	20.76 c ± 0.06	28.78 b ± 0.09	
Fibra cruda	3.38 a ± 0.15	1.59 c ± 0.16	1.94 b ± 0.37	
Extracto libre de nitrógeno	16.63 a ± 0.67	10.16 c ± 0.03	14.32 b ± 0.11	

Valores con la misma letra dentro de filas son estadísticamente iguales con base a la prueba de Tukey (p≤0.05) ± desviación estándar.

Los aguacates variedad Fortuna y Collinson presentaron mayor contenido de humedad 72.2 y 76.4 %, menor contenido de lípidos en las variedades Fortuna, Collinson y Barker 16.2, 13.6 y 11.9 %, respectivamente y menor cantidad de fibra en las tres variedades 1.6, 1.3 y 1.0 % (Galvão et al., 2014).

#### 3.3.3 Fenoles totales

En el Cuadro 5 se muestran los resultados de la capacidad antioxidante de cada parte de los frutos de *P. schiedeana* por accesión. Como puede observarse, en todas las accesiones, la cáscara presenta el mayor contenido fenoles totales (CFT), mientras que la accesión M2 presenta el mayor CFT en todas las partes del fruto.

El CFT en cáscara fresca y deshidratada de aguacate P. americana evaluada por Rotta et~al. (2015) fue menor al obtenido en este estudio (0.621 mg EAG g $_{\rm bf}^{-1}$  y 10.84 mg EAG g $_{\rm bs}^{-1}$ ); la semilla y pericarpio de chinene presentaron mayor CFT que el aguacate en base fresca. Los autores sugieren el aprovechamiento de la cáscara de aguacate ya que es una fuente de nutrientes que generalmente no es consumida. De acuerdo con Kósinska et~al. (2012) en las variedades de aguacate aguacate Hass y Shepard el CFT es menor (25.32  $\pm$  0.24 y 15.61  $\pm$  0.24 mg EC  $_{\rm bs}^{-1}$ , respectivamente) al de la accesión M2.

La pulpa de todas las accesiones de chinene presentó alto CFT, en comparación con el aguacate Hass en madurez avanzada (31.88 mg EAG  $100~{\rm g}_{\rm bf}^{-1}$  (Villa-Rodríguez *et al.*, 2011) y similar en las accesiones lxp y M1 al aguacate evaluado por Moreno *et al.* (2014) con 582.96 ± 18.83 mg EAG  $100~{\rm g}_{\rm bf}^{-1}$ . Asimismo, Pahua-Ramos *et al.* (2012) obtuvieron menor CFT en semilla de *P. americana* Mill (292.00 ± 9.81 mg EAG  ${\rm g}_{\rm bs}^{-1}$ ). De acuerdo con Rodríguez-Carpena *et al.* (2011) el CFT en cáscara (7841 ± 2447 y 13770 ± 2557 mg EAG  $100~{\rm g}_{\rm bs}^{-1}$ ), semilla (3511 ± 988 y 4164 ± 1048 mg EAG  $100~{\rm g}_{\rm bs}^{-1}$ ) y pulpa (92 ± 22 y 145 ± 31 mg EAG  $100~{\rm g}_{\rm bs}^{-1}$ ) de las variedades de aguacate Hass y Fuerte, fue mayor al obtenido en este estudio. Los autores sugieren el uso de la cáscara y semilla de aguacate por ser una buena fuente de polifenoles.

Cuadro 5. Fenoles totales, flavonoides totales y capacidad antioxidante de frutos de *P. schiedeana* de Huatusco, Veracruz.

	Frutos	Fenoles totales	Flavonoides	ABTS	DPPH	FRAP
		(mg EAG g $^{-1}$ )	$(mg EC g^{-1})$	( $\mu$ mol ET g <sup>-1</sup> )	( $\mu$ mol ET g <sup>-1</sup> )	( $\mu$ mol ET g <sup>-1</sup> )
Cáscara	Ixp	21.39 c ± 0.63	$0.34 c \pm 0.03$	103.66 c ± 2.10	67.38 b ± 1.37	39.62 c ± 0.68
	M1	25.05 b ± 1.09	$0.45 b \pm 0.02$	134.94 b ± 0.16	$70.39 b \pm 0.59$	57.14 b ± 1.34
	M2	30.79 a ± 0.99	0.49 a ± 0.00	164.57 a ± 2.41	100.34 a ± 5.68	78.98 a ± 1.32
Semilla	Ixp	6.15 b ± 0.08	0.24 b ± 0.00	58.45 b ± 1.39	37.64 b ± 4.81	42.81b ± 0.80
	M1	$6.20 \text{ b} \pm 0.09$	$0.27 b \pm 0.01$	63.99 b ± 1.78	63.43 a ± 6.79	47.20 a ± 1.83
	M2	$6.84 \text{ a} \pm 0.08$	0.31 a ± 0.00	77.11 a ± 1.53	67.07 a ± 1.98	50.17 a ± 1.05
Pericarpio	Ixp	1.75 c ± 0.01	0.10 b ± 0.00	7.27 b ± 1.02	20.10 c ± 0.04	12.78 b ± 0.45
	M1	1.85 b ± 0.02	$0.11 b \pm 0.00$	16.89 b ± 2.24	24.24 b ± 0.87	14.32 ab ± 0.30
	M2	1.95 a ± 0.02	0.11 a ± 0.10	18.87 a ± 1.38	37.25 a ± 2.19	15.60 a ± 0.98
Pulpa	Ixp	0.46 c ± 0.01	0.004 b ± 0.03	5.74 b ± 0.05	1.03 b ± 0.09	2.05 b ± 0.21
	M1	$0.52 b \pm 0.00$	0.01 a ± 0.00	11.43 a ± 0.43	5.34 ab ± 1.37	2.94 a ± 0.04
	M2	0.75 a ± 0.00	0.01 a ± 0.01	15.54 a ± 0.82	7.28 a ± 3.32	3.04 a ± 0.06

Valores con la misma letra dentro de columnas son estadísticamente iguales con base en la prueba de Tukey (p ≤ 0.05) ± desviación estándar.

Con respecto a este estudio, el aguacate Hass evaluado por Wang *et al.* (2010) presentó un menor CFT en cáscara ( $12.6 \pm 0.3 \text{ mg EAG g}_{bs}^{-1}$ ,) pero mayor en la semilla y pulpa ( $51.6 \pm 1.6 \text{ y} 4.9 \pm 0.7 \text{ mg EAG g}_{bs}^{-1}$ ). La extracción con etanol (50 %) de pulpa y semilla de *P. americana* Mill dio como resultado un mayor CFT en pulpa y semilla ( $1.3 \pm 0.0 \text{ y} 88.2 \pm 2.2 \text{ mg EAG g}_{bs}^{-1}$ ) (Soong & Barlow, 2004), que el encontrado en *P. schiedeana*.

Los flavonoides totales tuvieron mayor presencia en el pericarpio de los frutos de todas las colectas, seguido de la semilla y cáscara, en la pulpa de los frutos fue donde se registró menor presencia (Figura 2). Los frutos M2 se caracterizaron por tener mayor contenido de flavonoides en el pericarpio y semilla y los frutos M1 en cáscara y pulpa. El contenido de flavonoides en cáscara y semilla de chinene (Cuadro 5) es mayor al descrito por Villa-Rodríguez *et al.* (2011) en pulpa de aguacate Hass (26.36 mg EQ  $100~{\rm g_{bf}^{-1}}$ ). Asimismo, el contenido de flavonoides totales en cáscara de aguacate descrito por Rotta *et al.* (2015) es menor que lo obtenido en chinene (536.89 ± 44.89 mg EQ  ${\rm Kg_{bf}^{-1}}$  y  $1360.34 \pm 188.65~{\rm mg}$  EQ  ${\rm Kg_{bs}^{-1}}$ ).

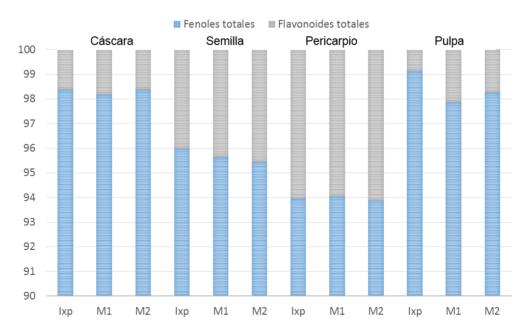


Figura 2. ContenidoTotal de Fenoles (CTF) y flavonoides totales (FT) en frutos de *P. schiedeana* 

## 3.3.4 Capacidad antioxidante

El ensayo ABTS puede ser comparado con FRAP y DPPH porque utilizan el mismo mecanismo de transferencia de electrones (Ozgen *et al.*, 2006). Con los tres métodos usados para evaluar la capacidad antioxidante de cada una de las partes del fruto de chinene, los valores más altos corresponden a la cáscara y están una proporción directa con el CFT. Los frutos M2 presentaron diferencia significativa por los tres ensayos en capacidad antioxidante en cáscara, en semilla por el ensayo ABTS, en pericarpio por los tres ensayos y en pulpa por DPPH. Este fruto se caracterizó por el mayor contenido de compuestos fenólicos en comparación con los frutos de las acccesiones lxp y M1.

De acuerdo con Rotta *et al.* (2015), la capacidad antioxidante de la cáscara de P. americana, determinada por el ensayo DPPH, fue mayor (763.02  $\pm$  54.43  $\mu$ mol ET  $g_{bs}^{-1}$ ) que la encontrada para todas las accesiones en este estudio. En la cáscara (0.16  $\pm$  0.00 y 0.11  $\pm$  0.00 mmol ET  $g_{bs}^{-1}$ ) y semilla (0.09  $\pm$  0.00 y 0.09  $\pm$  0.00 mmol ET  $g_{bs}^{-1}$ ) de las variedades Hass y Sherpard la capacidad antioxidante determinada por el ensayo ABTS (Kosinska *et al.*, 2012) fue menor a la obtenida en este estudio. Por el ensayo ABTS, Pahua-Ramos *et al.* (2012) reportaron mayor capacidad antioxidante en semilla de P. americana Mill (173.33  $\mu$ mol ET  $g_{bs}^{-1}$ ).

En cáscara de aguacate Hass fue encontrada menor capacidad antioxidante (Rodríguez-Carpena *et al.*, 2011) por el ensayo ABTS (74.06 ± 23.17  $\mu$ mol ET  $g_{bf}^{-1}$ ) y mayor en la variedad Fuerte (185.87 ± 26.91  $\mu$ mol ET  $g_{bf}^{-1}$ ). Aplicando el ensayo DPPH, los resultados obtenidos en cáscara de frutos M2 son mayores a lo reportado para la variedad Hass (71.92 ± 28.93  $\mu$ mol ET  $g_{bf}^{-1}$ ), pero menores en la variedad Fuerte (174.71 ± 29.80  $\mu$ mol ET  $g_{bf}^{-1}$ ). Asimismo, la semilla de aguacate Hass presentó mayor capacidad antioxidante por el ensayo ABTS (78.93 ± 26.73  $\mu$ mol ET  $g_{bf}^{-1}$ ) y la variedad Fuerte (121.61 ± 31.87  $\mu$ mol ET  $g_{bf}^{-1}$ ), mientras que por el ensayo DPPH, el aguacate Hass presentó menor capacidad (66.24 ± 24.84  $\mu$ mol ET  $g_{bf}^{-1}$ ). La pulpa evaluada por los

mismos autores presentó menor capacidad antioxidante por el ensayo DPPH y ABTS en aguacate Hass (0.32  $\pm$  0.07 y 0.94  $\pm$  0.23  $\mu$ mol ET  $g_{bf}^{-1}$ , respectivamente) y en la variedad Fuerte (0.29  $\pm$  0.09 y 0.78  $\pm$  0.17  $\mu$ mol ET  $g_{bf}^{-1}$ , respectivamente).

Moreno *et al.* (2014) obtuvieron en pulpa de aguacate (165.10  $\pm$  4.36  $\mu mol\ ET\ g_{bf}^{-1}$ ) menor al obtenido para pulpa de M1 y M2 evaluado por el ensayo DPPH. Gorinstein *et al.* (2010) reportaron la bioactividad de extractos metanólicos donde la pulpa de aguacate presentó (14.83  $\mu mol\ ET\ g_{bs}^{-1}$ ) mayor al encontrado en pulpa y pericarpio de los frutos de chinene. La actividad determinada en pulpa de chinene es mayor al reportado por Fu *et al.* (2011) en aguacate (1.16  $\pm$  0.05  $\mu mol\ ET\ g_{bf}^{-1}$ ).

## 3.4 CONCLUSIONES

En la caracterización de los frutos de todas las accesiones de chinene (*P. schiedeana*) no hubo diferencias significativas en el peso del fruto y el contenido de pulpa. La humedad y el extracto etéreo fueron los principales componentes en los frutos. En cuanto a las propiedades nutracéuticas de los frutos, la cáscara presentó mayor contenido de fenoles totales y capacidad antioxidante; los frutos M2 presentaron las mejores propiedades nutracéuticas. La cáscara de chinene es una fuente natural de fenoles con potencial antioxidante que podría ser empleado como base en ingredientes de alimentos funcionales o como aditivos antioxidantes.

#### 3.5 REFERENCIAS

Ariza-Ortega, J. A., Delgado-Macuil, R. J., Robles-de-la-Torre, R. R., López-Valdés, F., Coyotl-Huerta, J., Ramos-Cassellis, M. E., & Soriano-Morales, A. (2011). Efecto del campo eléctrico sobre el aceite de aguacate almacenado a varios tiempos. Ingeniería Agrícola y Biosistemas, 3(2), 67-73. doi: doi: 10.5154/r.inagbi.2011.11.005

Benavides Paz, Y., Cardona Salazar, B. L., Restrepo Duque, A. M., Londoño-Londoño, J., & González Álvarez, D. (2012). Comparación del aceite de aguacate variedad Hass cultivado en Colombia, obtenido por fluidos

supercríticos y métodos convencionales: una perspectiva desde la calidad. Revista Lasallista de Investigación,, Julio-Diciembre, 151-161.

Benzie, I. F. F., & Strain, J. J. (1996). The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of "Antioxidant Power": The FRAP Assay. ANALYTICAL BIOCHEMISTRY, 239, 70–76.

Bora, P. S., Narain, N., Rocha, R. V. M., & Paulo, M. Q. (2001). Characterization of the oils from the pulp and seeds of avocado (cultivar: Fuerte) fruits. . Grasas y Aceites, 52(3-4), 171-174.

Bost, J. B. S., N. J. H.; Crane, J.H. (2013). History, Distribution and Uses. In B. Schaffer, Wolstenholme, B. N., and Whiley, A. W. (Ed.), The Avocado: Botany, Production and Uses (2nd Edition ed.). Boston, USA: CAB International.

Campos-Hernández, N., Cruz-Castillo, J. G., Hernández-Montes, A., & Rubio-Hernández, D. (2011). Aceite de frutos de Persea schiedeana en sobremaduración y cosechados de árboles en estado silvestre. Universidad y Ciencia, 27, 179-189.

Carolina Henríquez, C. L.-A., Maritza Gómez, & Mariane Lutz, H. S. (2011). Time-dependence of Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) index in Chilean apples and berries. Archivos latinoamericanos de nutrición, Vol. 61 Nº 3.

Castañeda-Vildózola, A., Del Ángel-Coronel, O. A., Cruz-Castillo, J. G., & Váldez-Carrasco, J. (2009). Persea schiedeana (Lauraceae), nuevo hospedero de Heilipus lauri Boheman (Coleoptera: Curculionidae) en Veracruz, México. Neotropical Entomology, 38, 871-872.

Cheng, Z., Moore, J., & Yu, L. (2006). High-Throughput Relative DPPH Radical Scavenging Capacity Assay. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 54(20), 7429-7436. doi:10.1021/jf0611668

Corral-Aguayo, R. D., Yahia, E. M., Carrillo-Lopez, A., & González-Aguilar, G. (2008). Correlation between Some Nutritional Components and the Total Antioxidant Capacity Measured with Six Different Assays in Eight Horticultural Crops. J Agric Food Chem, 56(22), 10498-10504. doi: 10.1021/jf801983r

Cruz-Castillo, J. G., Ángel-Coronel, O. A., Cruz-Medina, J., & Joaquín-Martínez, M. C. (2007). Carácterísticas Morfológicas y Bioquímicas de Frutos de Chinene. Revista Chapingo. Serie Horticultura, 13(2), 141-147.

Del Ángel-Coronel, O. A., Cruz-Castillo, J. G., De La Cruz-Medina, J., & Famiani, F. (2010). Ripening and Physiological Changes in the Fruit of Persea schiedeana Nees during the Postharvest Period. HortScience, 45(1), 172-175.

Fu, L., Xu, B.-T., Xu, X.-R., Gan, R.-Y., Zhang, Y., Xia, E.-Q., & Li, H.-B. (2011). Antioxidant capacities and total phenolic contents of 62 fruits. Food Chemistry, 129(2), 345-350. doi:10.1016/j.foodchem.2011.04.079

Galvão, M. d. S., Narain, N., & Nigam, N. (2014). Influence of different cultivars on oil quality and chemical characteristics of avocado fruit. Food Science and Technology (Campinas), 34(3), 539-546. doi:10.1590/1678-457x.6388

Gorinstein, S., Haruenkit, R., Poovarodom, S., Vearasilp, S., Ruamsuke, P., Namiesnik, J., ... & Sheng, G. P. (2010). Some analytical assays for the determination of bioactivity of exotic fruits. Phytochemical Analysis, 21(4), 355-362.

Joaquín Martínez, M. C. C., Juan Guillermo; De La Cruz Medina, Javier; Ángel, & Coronel, Ó. d. (2007). Distribución ecogeográfica y características del fruto de persea schiedeana nees. en los Tuxtlas, Veracruz, México. Revista Fitotecnia Mexicana, Vol. 30 (4), 403 – 410.

Kosinska, A., Karamac, M., Estrella, I., Hernandez, T., Bartolome, B., & Dykes, G. A. (2012). Phenolic compound profiles and antioxidant capacity of Persea americana Mill. peels and seeds of two varieties. J Agric Food Chem, 60(18), 4613-4619. doi:10.1021/jf300090p

Kubola, J., & Siriamornpun, S. (2011). Phytochemicals and antioxidant activity of different fruit fractions (peel, pulp, aril and seed) of Thai gac (Momordica cochinchinensis Spreng). Food Chem, 127(3), 1138-1145. doi:10.1016/j.foodchem.2011.01.115

Moreno, E., Ortiz, B. L., & Restrepo, L. P. (2014). Contenido total de fenoles y actividad antioxidante de pulpa de seis frutas tropicales. Revista Colombiana de Química, 43(3), 41-48. doi:10.15446/rev.colomb.quim.v43n3.53615

Munsell, H. E., Williams, L. O., Guild, L. P., Troescher, C. B., Nightingale, G., & Harris, R. S. (1950). Composition of Food Plants of Central America. Iii. Guatemala. Journal of Food Science, 15(1), 34-52. doi: 10.1111/j.1365-2621.1950.tb16448.x

Ortiz, M. A., Dorantes, A. L., Gallndez, M. J., & Cardenas, S. E. (2004). Effect of a novel oil extraction method on avocado (Persea americana Mill) pulp microstructure. Plant Foods for Hum Nutrution, 59(1), 11-14.

Ozgen, M., Reese, R. N., Tulio, A. Z., Scheerens, J. C., & Miller, A. R. (2006). Modified 2, 2-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) method to measure antioxidant capacity of selected small fruits and comparison to ferric reducing antioxidant power (FRAP) and 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) methods. . Journal of agricultural and food chemistry, 54(4), 1151-1157 doi:10.1021/jf051960d

Pahua-Ramos, M. E., Ortiz-Moreno, A., Chamorro-Cevallos, G., Hernandez-Navarro, M. D., Garduno-Siciliano, L., Necoechea-Mondragon, H., & Hernandez-Ortega, M. (2012). Hypolipidemic effect of avocado (Persea americana Mill) seed in a hypercholesterolemic mouse model. Plant Foods Hum Nutr, 67(1), 10-16. doi:10.1007/s11130-012-0280-6

Pisoschi, A. M., & Pop, A. (2015). The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. Eur J Med Chem, 97, 55-74. doi:10.1016/j.ejmech.2015.04.040

R Re, N Pellegrini, A Proteggente, A Pannala, M Yang, & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical caton decolorization assay. Free Radical Biology & Medicine, 26, 1231–1237.

Rendón-Cantillano, J. L. (2003). Caracterización física y química del fruto y del aceite de sucte (Persea schiedeana). (Ingeniero en Agroindustria), Escuela Agrícola Panamericana Zamorano, Honduras.

Rodriguez-Carpena, J. G., Morcuende, D., Andrade, M. J., Kylli, P., & Estevez, M. (2011). Avocado (Persea americana Mill.) phenolics, in vitro antioxidant and antimicrobial activities, and inhibition of lipid and protein oxidation in porcine patties. J Agric Food Chem, 59(10), 5625-5635. doi:10.1021/jf1048832

Rotta, E. M., de Morais, D. R., Biondo, P. B. F., dos Santos, V. J., Matsushita, M., & Visentainer, J. V. (2015). Use of avocado peel (Persea americana) in tea formulation: a functional product containing phenolic compounds with antioxidant activity. Acta Scientiarum. Technology, 38(1), 23-29. doi:.org/10.4025/actascitechnol.v38i1.27397

Singleton, V. L. & Rossi, J. A. 1965. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. American Journal of Enology and Viticulture 16, 144-158.

Soong, Y.-Y., & Barlow, P. J. (2004). Antioxidant activity and phenolic content of selected fruit seeds. Food Chemistry, 88(3), 411-417. doi:10.1016/j.foodchem.2004.02.003

Villa-Rodríguez, J. A., Molina-Corral, F. J., Ayala-Zavala, J. F., Olivas, G. I., & González-Aguilar, G. A. (2011). Effect of maturity stage on the content of fatty acids and antioxidant activity of 'Hass' avocado. Food Research International, 44(5), 1231-1237.

Wang, W., Bostic, T. R., & Gu, L. (2010). Antioxidant capacities, procyanidins and pigments in avocados of different strains and cultivars. Food Chemistry, 122(4), 1193-1198. doi:10.1016/j.foodchem.2010.03.114

# IV EXTRACCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DEL ACEITE OBTENIDO POR CENTRIFUGACIÓN DE *Persea schiedeana* Nees

## EXTRACTION AND CHARACTERIZATION OF OIL OBTAINED BY CENTRIFUGATION OF *Persea schiedeana* Nees

#### RESUMEN

El aceite de la pulpa de chinene tiene un alto valor nutricional. En este trabajo se llevó a cabo la extracción y caracterización de aceite a partir de la pulpa de tres accesiones: Ixpila (Ixp), Michapa 1 (M1) y Michapa 2 (M2) de P. schiedeana, colectadas en dos localidades de Huatusco Veracruz. Los aceites se obtuvieron por centrifugación (17 000 g, 30 min) de las mezclas pulpa/disolución al 5 % de CaCO<sub>3</sub> (1:3/, p/v) y pulpa/disolución al 5% de NaCl (1:3/, p/v). Las propiedades de los aceites, índices de acidez, saponificación, peróxidos y vodo; así como capacidad calorífica, densidad y viscosidad, fueron determinados de acuerdo a los métodos de análisis de la Organización Internacional de Normalización. Asimismo, el perfil de ácidos grasos se analizó por cromatografía de gases, después de la transesterificación de los triglicéridos. De acuerdo con los resultados, se observaron diferencias (p ≤ 0.05) entre los tratamientos de extracción, obteniendo un mayor porcentaje de recuperación de aceite (45.38 %) a partir de la pulpa de lxp con CaCO<sub>3</sub>. Todos los aceites cumplen con la especificación permitida por la NMX-F-052-SCFI-2008 para el índice de acidez y peróxidos, sin embargo, la accesión M2 presentó mayor proporción de ácidos grasos de cadena larga, por lo tanto, mayor índice de saponificación. El índice de yodo en todas las accesiones es menor al establecido por la NMX-F-052-SCFI-2008 debido a la baja proporción de ácido linoleico. En conclusión, los frutos Ixp son los mejores productores de aceite, por lo tanto el excedente en la producción de éstos podría ser una alternativa para obtener aceite comestible.

Palabras clave: Aceite, centrifugación, Persea schiedeana Nees

Autor: Anallely López Yerena

Director de Tesis: Dr. Juan Guillermo Cruz Castillo

Tesis de Maestría en Ciencias en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria, Universidad Autónoma Chapingo

## **ABSTRACT**

The pulp oil of chinene has high nutritional value. This work was carried out the extraction and characterization of oil from the pulp three accessions: Ixpila (Ixp), Michapa 1 (M1) and Michapa 2 (M2) of P. schiedeana collected in two locations in Veracruz Huatusco. The oils were obtained by centrifugation (17 000 g, 30 min) of the pulp/dissolution mixtures 5 % CaCO<sub>3</sub> (1:3/, w/v) and pulp/dissolution of NaCl 5 % (1:3/, w/v). The properties of the oils, acid, saponification, peroxides and iodine values; and heat capacity, density and viscosity were determined according to the methods of analysis of the International Organization for Standardization. Also, the fatty acid profile was analyzed by chromatography after transesterification of triglycerides. According to the results, were observed differences ( $p \le 0.05$ ) between treatments of extraction, obtaining a higher percentage of oil recovery (45.38 %) from pulp lxp with CaCO<sub>3</sub>. All oils meet the allowed specification by NMX-F-052-SCFI-2008 for the acid and peroxides, however, M2 accession presented a higher proportion of fatty acids long chain, therefore, higher rate of saponification. The iodine in all accessions is less than that established by the NMX-F-052-SCFI-2008 due to the low proportion of linoleic acid. In conclusion, the lxp fruits are the best producers of oil, therefore the surplus in the production of these could be an alternative for edible oil.

**Keywords:** Oil, centrifugation, *Persea schiedeana* Nees.

#### 4.1 INTRODUCCIÓN

La forma de extracción de aceites vegetales con mayor eficiencia, en cuanto a rendimiento, es utilizando disolventes (Landucci *et al.*, 2013), sin embargo esto implica riesgos al medio ambiente y a la salud del consumidor (Luque de Castro *et al.*, 2010). La utilización de centrifugado es una alternativa de separación de partículas de líquidos la cual es utilizada en diferentes tipos de industria (Anlauf, 2007). La extracción de aceite de la pulpa de aguacate utilizando centrifugado ha sido evaluada previamente (Buenrostro *et al.*, 1986; Werman y Neeman, 1987; Bizimana *et al.*, 1993) con rendimientos de extracción del 60 al 70 %. El aceite obtenido de la pulpa del fruto del árbol de aguacate, *Persea americana*, recientemente ha recibido interés debido a su valor nutricional (Knothe, 2013).

El fruto de *Persea schiedeana* Nees conocido comúnmente como chinene tiene en promedio entre 24.7 y 36 % de aceites totales (Joaquín-Martínez *et al.* 2007). A su vez el aceite de chinene ha sido extraído mediante maceración con disolventes (Campos-Hernández *et al.*, 2011), sin embargo, la extracción del

aceite no ha sido explorada mediante métodos sin la utilización de disolventes. El uso de solventes orgánicos a escala comercial ha sido discutido debido a problemas de contaminación del aire, asimismo, los solventes afectan la calidad de los ácidos grasos insaturados induciendo la formación de isómeros (*trans*). El método de centrifugación puede ser una opción para la extracción de aceite de aguacate porque el tratamiento no incrementa significativamente el deterioro de los ácidos grasos poliinsaturados y el color verde se mantiene (Ariza-Ortega *et al.*, 2010). La producción de aceite de aguacate por separación centrifuga fue desarrollada recientemente para reducir costos de energía y minimizar la contaminación del aire causado por los solventes orgánicos (Werman y Neeman, 1987). Por otra parte, los procesos de extracción, refinación y almacenamiento, de los aceites promueven la degradación de los ácidos grasos insaturados, lo cual afecta su vida útil. Además, durante la extracción y refinación se forman ácidos grasos *trans* (AGT) (Ariza-Ortega *et al.*, 2011).

El objetivo de este trabajo fue evaluar la extracción de aceite del mesocarpio de frutos de *Persea schiedeana* Nees colectados en dos localidades del municipio de Huatusco, Veracruz, mediante centrifugación utilizando sales inorgánicas así como determinar sus propiedades fisicoquímicas, mecánicas y valor calorífico.

## **4.2 MATERIALES Y MÉTODOS**

#### 4.2.1 Extracción de aceite por Soxhlet

El contenido total de aceite fue determinado en frutos de cada colecta, basados en la metodología propuesta por Marjolaine *et al.* (2008), con modificaciones, 20 g de pulpa fresca previamente molida fueron colocados en un cartucho de papel filtro en un aparato de destilación Soxhlet, 300 mL de hexano fueron añadidos a un matraz y la muestra fue colocada a reflujo constante durante 18 h. Al finalizar el disolvente fue removido en un rotavapor (Büchi Rotovapor, Büchi Labortechnik AG, Flawil, Switzerland) aplicando vacío y en baño de vapor a 40 °C. El aceite obtenido de la extracción fue pesado y colocado en frascos ámbar

hasta su análisis y el porcentaje de recuperación fue calculado de acuerdo a la siguiente ecuación:

Contenido de aceite (%) = 
$$\frac{(100 - W) * Z}{Y}$$

De la cual W es el contenido de humedad (%), Z es el peso del aceite extraído (g), Y es el peso de la muestra de pulpa (g). El rendimiento de aceite por este método se tomó como referencia (aceite total en la muestra) para calcular el rendimiento de la extracción por centrifugación.

## 4.2.2 Extracción de aceite por centrifugado

Para evaluar la extracción de aceite por centrifugación se utilizaron los frutos colectados en dos localidades de Huatusco Veracruz, Ixpila (Ixp) y Michapa 1 (M1) y Michapa 2 (M2). En total se aplicaron seis tratamientos, cada accesión con un tipo de sal (carbonato de calcio o cloruro de sodio) y se procedió de acuerdo con la metodología propuesta por Werman y Neeman (1987) con algunas modificaciones. Se mezcló la pulpa de cada fruto con las disoluciones de carbonato de sodio o cloruro de sodio al 5%, preparadas previamente con agua caliente (90 °C), en una proporción 1:3 (p/v). La mezcla se dejó reposar por 5 min y después fue centriugada (17 000 g, 10 °C, 30 min).

El aceite obtenido de la extracción fue pesado y almacenado en frascos ámbar hasta su análisis y el porcentaje de recuperación fue calculado con la misma ecuación que la extracción por Soxhlet. Donde W es el contenido de humedad (%), Z es el peso del aceite extraído (g), Y es el peso de la muestra de pulpa (g).

Contenido de aceite (%) = 
$$\frac{(100 - W) * Z}{V}$$

El porcentaje de aceite recuperado obtenido por centrifugación se calculó de acuerdo a la siguiente ecuación, donde m<sub>2</sub> es el aceite obtenido por Soxhlet y m<sub>1</sub> el aceite obtenido por centrifugación.

Aceite recuperado (%) = 
$$\frac{(100 * m_2)}{m_1}$$

## Perfil de ácidos grasos

El aceite de chinene fue sometido a una reacción de transesterificación alcalina de acuerdo con Marroquín-Andrade et al. (2011). El aceite de chinene (2 g) se mezcló con una disolución (2 mL) de KOH (7 mgmL<sup>-1</sup>). La mezcla fue colocada a reflujo y agitación constante durante 2 h. Transcurrido dicho tiempo, la mezcla de reacción se transfirió a un embudo de separación y se dejó durante 24 h hasta observar la separación de fases, la fase superior consistente en los ésteres metílicos de ácidos grasos (FAME) y la inferior de glicerina, después de descartar la glicerina, los ésteres metílicos fueron tratados subsecuentemente con ácido citrico al 0.1 % y agua caliente. Finalmente, los FAME fueron secados con sulfato de sodio anhidro. Los FAME se analizaron por cromatografía de gases en un equipo marca Agilent 6890 con un detector de ionización de flama (FID), utilizando una columna AT-FAME (30 m x 0.25 mm d.i. x 0.25 µm de espesor de película). La temperatura inicial del horno fue de 180 °C y se establecieron rampas de 10 °C por minuto hasta alcanzar una temperatura final de 230 °C. Tanto en el inyector como en el detector, la temperatura fue de 250 °C. Se utilizó hidrógeno como gas acarreador, a una velocidad de flujo de 1.8 mLmin<sup>-1</sup>. Como estándar se utilizaron FAME's, cuyos tiempos de retención fueron utilizados para cuantificar los ésteres metílicos en la muestra.

### Propiedades fisicoquímicas del aceite obtenido por centrifugación

### Porcentaje de ácidos grasos libres

De acuerdo a la norma ISO 660:2009, 0.5 g de aceite fueron mezclados con 10 mL de éter-etanol (1:1) y 0.5 mL de fenolftaleína. La muestra se agitó constantemente y fue titulada con hidróxido de potasio (KOH) 0.1 N hasta vire de color rosa permanente por al menos 1 min. Los ácidos grasos libres fueron expresados en porcentaje por masa de acuerdo a la siguiente ecuación:

% acidos grasos libres = 
$$\frac{V*N*M}{m}*100$$

Donde V es el volumen de KOH usados en la titulación (mL), N es la normalidad exacta del KOH, M es la masa molar por mol del ácido oleico (g), m es la masa de la muestra (g). Los resultados fueron expresados en porcentaje de ácido oleico por gramo de muestra (g).

# Índice de peróxidos

El índice de peróxidos se determinó de acuerdo a la norma ISO 3960:2007; el aceite de chinene (1 g) fue mezclado con 6 mL de ácido acético glacial/cloroformo (3:2, v/v), la mezcla fue agitada y se agregó una disolución saturada de yoduro de potasio (0.1 mL), posteriormente se tapó y se dejó reposar durante 1 min y finalmente se agregó agua destilada (6 mL). Se procedió a la titulación con solución valorada de tiosulfato de sodio (Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) 0.01 N, durante la titulación la mezcla se agitó vigorosamente y antes de la desaparición del color amarillo se adicionó 0.1 mL de solución indicadora de almidón, se continuó con la titulación hasta la desaparición del color azul en la mezcla. Un blanco de reactivos fue titulado de la misma forma que la muestra. La lectura fue tomada de acuerdo a los mililitros gastados en la titulación y el índice de peróxidos fue obtenido de la ecuación siguiente:

$$IP = \frac{(A - A_1) \times N \times 1000}{m}$$

Donde A son los mililitros de disolución de Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> gastados en la titulación de la muestra, A<sub>1</sub> son los mililitros de disolución de Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> gastados en la titulación del blanco, N es la normalidad de la disolución de Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, m es el peso de la muestra (g). Los resultados fueron expresados como miliequivalentes de oxígeno activo por kilogramo de aceite (meq O Kg<sup>-1</sup>). La determinación fue realizada por triplicado.

# Índice de yodo

El índice de yodo se determinó de acuerdo a la norma ISO 3961:2013, el aceite de chinene (0.2 g) fue mezclado con 10 mL de cloruro de metileno (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) y 10 mL de reactivo de Wijs. La mezcla se agitó y colocó en la oscuridad durante 30 min, después se agregaron 10 mL de yoduro de potasio (10 %) y se procedió a titular con solución valorada de Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 0.1 N, durante la titulación la mezcla fue agitada constantemente. Se tituló hasta vire color amarillo paja y después se agregó 1 mL de solución indicadora de almidón, titulando hasta el vire de coloración azul a incoloro. A la par un blanco de reactivos fue titulado de la misma forma que la muestra. La lectura fue tomada de acuerdo a los mililitros gastados en la titulación y el índice de yodo fue obtenido de la ecuación siguiente:

$$IY = \frac{(V_1 - V_2) \times N \times 12.69}{m}$$

Donde  $V_1$  son los mililitros gastados en la titulación del blanco,  $V_2$  son los mililitros gastados en la titulación de la muestra, N es la normalidad de la disolución de  $Na_2S_2O_3$ , M es la masa de la muestra (g). Los resultados fueron expresados como gramos de yodo absorbido por cada 100 g de muestra (g 100  $g^{-1}$ ). La determinación fue realizada por triplicado.

# Índice de saponificación

El índice de saponificación se determinó de acuerdo a la norma ISO 3657:2013, el aceite de chinene (5 g) se mezcló, en un matraz bola, con 50 mL de KOH 0.5 N (medidos con una pipeta volumétrica). La mezcla se sometió a reflujo durante 30 min con agitación constante, al término de la reacción de hidrólisis, la mezcla se dejó enfriar y se adicionó 1 mL de fenolftaleína. El exceso de KOH fue valorado con ácido clorhídrico (HCl) 0.5 N. Se llevó a cabo un blanco de reactivos con las mismas cantidades empleadas en las muestras. La lectura fue tomada de acuerdo a los mililitros gastados en la titulación y el índice de saponificación fue obtenido de la siguiente ecuación:

$$IS = \frac{(B - V) \times N \times 56.1}{m}$$

Donde V son los mililitros de HCl gastados en la valoración de la muestra, B son los mililitros de HCl gastados en la valoración del blanco, N es la normalidad del HCl, m es la masa de la muestra (g), 56.1 peso molecular de KOH (g mol<sup>-1</sup>). Los resultados fueron expresados como miligramos de KOH requeridos para saponificar un gramo de muestra (mg g<sup>-1</sup>). La determinación fue realizada por triplicado.

# Viscosidad y densidad

La viscosidad dinámica y cinemática así como la densidad fueron determinadas en un viscosímetro (Anton Paar modelo SVM 3000, tipo Stabinger, viscosímetro dual y medidor de densidad) de acuerdo a la norma ASTM D7042. 2.5 mL de aceite fueron colocados en una jeringa desechable de plástico e introducidos a la celda del viscosímetro para efectuar la medición. Las lecturas fueron tomadas en el intervalo de temperaturas de 20 a 90 °C en incrementos de 10 °C, el control de temperatura fue interno en el instrumento. Las unidades fueron expresadas en mPas-1, mm²s-1 y gcm³, para la viscosidad dinámica, cinemática y densidad, respectivamente.

### Calor de combustión

El calor de combustión se determinó de acuerdo con el método ASTM D240; el aceite de chinene (0.5 g) fueron colocados directamente en la capsula de acero inoxidable y el equipo fue programado para determinar el calor de combustión. Los valores fueron expresados en MJKg<sup>-1</sup>.

### 4.2.3 Análisis estadístico

Los experimentos se condujeron de acuerdo a un diseño completamente al azar con los tratamientos y repeticiones descritas previamente. Aplicándose análisis de varianza y comparación de medias de tratamientos (Tukey, 0.05) mediante el paquete estadístico SAS (versión 9.4).

# **4.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

# 4.3.1 Aceites totales obtenido por Soxhlet

La extracción exhaustiva por Soxhlet empleando hexano como disolvente permitió determinar la cantidad de aceite totales en la pulpa en base fresca. Los frutos lxp presentaron mayor contenido de aceite (24.99  $\pm$  1.14 %) ( $p \le 0.05$ ), mientras que los frutos M1 y M2 rindieron 19.07  $\pm$  0.24 y 19.67  $\pm$  0.39 %, respectivamente. De acuerdo con la revisión de literatura (Joaquín-Martínez *et al.*, 2007) se ha encontrado que los frutos de chinene de la región central de Veracruz presentan mayor contenido de aceite (28.3 a 31.8 %). En frutos de chinene, Rendón-Cantillano *et al.* (2003) obtuvieron un rendimiento de aceite de 10.60 g  $100_{\rm bf}^{-1}$ , utilizando la extracción Soxhlet con éter de petróleo y Campos-Hernández *et al.* (2011) reportaron un rendimiento de 12.12 % de aceite obtenido por maceración con isopropanol y hexano.

El aceite obtenido por Soxhlet de diferentes cultivares de aguacate evaluado por Galvão *et al.* (2014) fue menor que en frutos de chinene (11.9-16.0 %). Los frutos lxp presentaron mayor porcentaje de aceite al reportado por Ozdemir y Topuz (2004) en frutos de aguacate variedad Fuerte y Hass (20.21 y 19.57 %, respectivamente), y por Villa-Rodríguez *et al.* (2011) en aguacate Hass (18.43, 20.36, 19.89 y 19.45 %). El contenido de aceite en los frutos de chinene fue similar al obtenido en aguacate Hass (10 a 25 %) (Lu *et al.*, 2009).

# 4.3.2 Aceite obtenido por centrifugación

En los tratamientos de extracción por centrifugación (Cuadro 6) fueron observadas diferencias significativas ( $p \le 0.05$ ), donde el porcentaje de recuperación osciló entre 21.14 y 45.38 % del total de aceite disponible en la pulpa de los frutos; El T1 presentó el mayor porcentaje de recuperación (45.38 %). El aceite de chinene presentó color verde traslúcido y a temperatura ambiente se observó una precipitación color blanco que género turbidez en todos los tratamientos. Jácome *et al.* (2014) reportaron mayor rendimiento en

aceite de chinene obtenido por centrifugación asistido con microondas convencional (66.87 y 68.12 %).

Todos los tratamientos presentaron menor porcentaje de recuperación al reportado por Werman y Neeman (1987) al extraer aceite de aguacate variedad Fuerte donde la pulpa tenía un pH 5.5 y se adicionó cloruro de sodio (5 %) alcanzando el 72.7 y 75.3 % del total del aceite. Bizimana *et al.* (1993) obtuvieron mayores rendimientos (71.3 a 72.0 %) al ajustar el pH de la pulpa a 5.5 con HCl y en presencia de una disolución de carbonato de sodio (5 %), alcanzando el 78 % cuando la velocidad de centrifugado fue aumentada a 12,300 g, sin embargo esto implica la utilización de HCl para la acidificación de la pulpa y sales inorgánicas los cuales tienen efectos corrosivos en el equipo de extracción.

Cuadro 6. Rendimientos de extracción de aceite por centrifugación de pulpa con diferentes sales inorgánicas.

Tratamiento	Accesión	Sal (5 %)	Aceite recuperado (%)
T 1	Ixp	CaCO <sub>3</sub>	45.38 a
T 2	Ixp	NaCl	35.84 b
Т3	M1	CaCO₃	23.23 c
T 4	M1	NaCl	21.23 c
T 5	M2	CaCO <sub>3</sub>	34.40 b
T 6	M2	NaCl	21.14 c

Valores con la misma letra dentro de columnas son estadísticamente iguales con base a la prueba de Tukey (p≤0.05).

Jorge et al. (2015) reportaron 61.62 % de recuperación de aceite de pulpa de aguacate Hass obtenido por centrifugación. El rendimiento de la centrifugación/prensado es del 60-80 % dependiendo de la variedad de la fruta (Costagli y Betti, 2015). A partir de aguacate Hass, Ariza-Ortega et al. (2011) obtuvieron por centrifugación un rendimiento de 38.3 % de aceite, aunque el rendimiento fue bajo, uno de los propósitos del estudio fue evitar la formación de grasos trans generados durante la extracción con disolventes.

## Perfil de ácidos grasos

En todos los tratamientos el ácido graso predominante fue el oleico, seguido del palmítico, palmitoleico y linoleico (Cuadro 7). El 68 % de los ácidos grasos correspondió a los insaturados, mientras que el 27 % a saturados. El contenido de ácido oleico en este estudio fue mayor al descrito por Joaquín-Martínez *et al.* (2007) en chinenes de la región de los Tuxtlas, Veracruz, con 37.7 a 49.6 %, además, los frutos evaluados por los autores presentaron mayor porcentaje de ácido linoleico con 6.1 a 9.8 % y linolénico con 0.5 a 0.9 %. En el aceite de chinene descrito por Jácome *et al.* (2014) las muestras presentaron mayor proporción de ácidos insaturados: ácido oleico (61.71 a 71.61 %), linoleico (3.45 a 4.88 %) y linolénico (0.36 a 0.50 %) y menor proporción de saturados como el palmítico (15.93 a 20.98 %).

Bora *et al.* (2001) encontraron la presencia de estos ácidos grasos en el orden de importancia: oleico, palmítico, linoleico para aceites de la pulpa de aguacate variedad Fuerte, a su vez Salgado *et al.* (2008), Takenaga (2008), Azizi y Najafzadeh (2008) y Knothe (2013), hallaron la misma tendencia en aceite de aguacate Hass. El aceite de aguacate Hass evaluado por Reddy *et al.* (2012) presentó menor concentración de ácido oleico al obtenido en aceite de chinene (41.50 a 48.57 %). En aceite de aguacate Hass, Jorge *et al.* (2015) reportaron 80.12 % de ácidos grasos insaturados, predominando el oleico (54.72 ± 0.02 %), con presencia de ácido linolénico el cual no estuvo presente en aceite de chinene.

Valores similares fueron encontrados por Ariza-Ortega *et al.* (2010) en aguacate Hass en el contenido de ácido oleico (60.10 a 60.60 %), presentando mayor proporción de poliinsaturados como los ácidos linolénico y gadoléico, los cuales no fueron identificados en el aceite de chinene. En variedades de aguacate Fortuna, Collison y Barker descrito por Galvão *et al.* (2014) se encontró mayor proporción de ácidos grasos insaturados, entre los cuales el ácido oleico estaba en mayor proporción pero menor a lo obtenido en este trabajo, sin embargo,

con mayor presencia de ácidos grasos poliinsaturados en las tres variedades  $(16.93 \pm 0.38, 13.67 \pm 0.91 \text{ y } 21.27 \pm 2.43 \text{ %, respectivamente}).$ 

En aguacate Hass, la diferencia en las concentraciones de ácidos grasos del aceite deriva principalmente de factores como las condiciones climáticas, estado de madurez, variedad y exposición al sol (Villa-Rodríguez *et al.*, 2011). De acuerdo con Richard *et al.* (2008) la capacidad de algunos ácidos grasos de actuar como antioxidantes, depende de su grado de insaturación, entre ellos los ácidos oleico, linoleico, linolénico, araquidónico, eicosapentanoico (EPA) y docosahexaenoico (DHA).

Cuadro 7. Perfil de ácidos grasos del aceite de *P. schiedeana* extraído mediante centrifugado (%).

Ácidos g		T1	T2	T3	T4	T5	T6
Palmítico	C16:0	25.01	24.12	24.18	25.95	24.67	23.16
Palmitoleico	C16:1	5.69	6.60	6.23	3.25	3.81	5.25
Esteárico	C18:0	1.91	2.29	1.75	3.29	2.08	1.80
Oleico	C18:1ω9	58.96	59.33	59.86	61.46	56.58	60.38
Linoleico	C18:2ω6	5.56	5.65	4.87	0.54	1.29	5.65
Behénico	C20:0				0.63	2.57	
Otros		2.85	1.98	3.08	4.85	8.97	3.73
AGI		70.21	71.59	70.98	65.26	61.69	71.29
AGS		26.93	26.41	25.93	29.88	29.33	24.96
AGI / AGS		2.60	2.71	2.73	2.18	2.10	2.85

AGI: ácidos grasos insaturados, AGS: ácidos grasos saturados, AGI/AGS: ácidos grasos insaturados/ácidos grasos saturados.

# Propiedades fisicoquímicas del aceite obtenido por centrifugado

# Porcentaje de ácidos grasos libres

El índice de acidez es una medida inicial de la naturaleza y calidad del material vegetal empleado, y del procesamiento que permite inferir sobre la frescura de los aceites, así a menor índice de acidez mayor frescura del aceite. Si bien existieron diferencias entre los tratamientos del aceite obtenido por

centrifugación (Cuadro 8) ninguno superó el nivel máximo permitido por la NMX-F-052-SCFI-2008 para aceite de aguacate (1.5 % de ácido oleico). Por lo tanto, en todos los tratamientos del aceite de chinene hubo un mínimo de formación de AGL, evitando de esta manera la degradación por hidrolisis del aceite, demostrando la calidad del mismo.

El porcentaje de AGL de T1, T2 y T3 fue mayor al analizado por Campos-Hernández *et al.* (2011) en aceite de chinene obtenido por maceración (0.61 %). El aceite de chinene obtenido por centrifugación descrito por Jácome *et al.* (2014) presentó de 2.62 a 11.6 % de AGL mayor al obtenido en este estudio. Valores similares fueron reportados por Ariza-Ortega *et al.* (2011) en aguacate Hass de 0 a 365 días de almacenamiento (0.74 a 0.84 % de AGL).

El aceite de aguacate descrito por Restrepo *et al.* (2012) presentó mayor porcentaje de AGL cuando se obtuvo por Soxhlet y prensado en frio y menor cuando fue por fluidos supercríticos (1.68 ± 0.14, 4.63 ± 0.03 y 0.48 ± 0.35 %, respectivamente). El aceite obtenido por Soxhlet de los cultivares de aguacate Fortuna, Collinson y Barker evaluado por Galvão *et al.* (2014) fue de 0.49, 0.51 y 0.54 %, respectivamente, menor al obtenido en T1, T2, T3 y T5. El aceite de aguacate Hass obtenido por centrifugación analizado por Jorge *et al.* (2015) presentó mayor contenido de AGL (1.58 %).

# Índice de peróxidos

El aceite de chinene presentó ligero avance en el proceso de oxidación de los ácidos grasos y formación de radicales libres, sin diferencias significativas entre tratamientos (Cuadro 8). Sin embargo, no superaron el límite máximo permitido para aceite de aguacate de 10 meq O<sub>2</sub> Kg<sup>-1</sup> (NMX-F-052-SCFI-2008). El aceite de chinene de todos los tratamientos contiene un mínimo de oxidación de sus ácidos grasos insaturados, evitando así que sea susceptible a la aparición de olores y sabores indeseables ocasionados por la formación de aldehídos, alcoholes y cetonas causadas por los hidroperóxidos y peróxidos.

El aceite de chinene descrito por Campos-Hernández *et al.* (2011) y Jácome *et al.* (2014) presentó mayor índice de oxidación (9.67 y 4.09 a 8.68 meq O<sub>2</sub> Kg<sup>-1</sup>, respectivamente). En aceite de aguacate Hass obtenido por centrifugación descrito por Jorge *et al.* (2015) y por prensado en frío descrito por Prescha *et al.* (2014) presentó mayor índice de oxidación (5.54 ± 0.25 y 4.42 a 15.74 meq Kg<sup>-1</sup>, respectivamente) que en aceite de chinene. Valores similares de IP fueron obtenidos por Ariza-Ortega *et al.* (2011) en aceite de aguacate Hass a 0, 4 y 13 días de almacenamiento (2.46, 2.48 y 2.49 meq Kg<sup>-1</sup>, respectivamente).

Mayor producción de oxigeno activo por calentamiento prolongado y exposición a la luz del aceite de aguacate Hass obtenido por Soxhlet, prensado en frío y por fluidos supercríticos (31.66  $\pm$  2.47, 22.86  $\pm$  1.94 y 16.87  $\pm$  1.15 meq Kg<sup>-1</sup>, respectivamente), fue descrito por Restrepo *et al.* (2012). Sin embargo, menor oxidación fue descrito por Galvão *et al.* (2014) en aceite obtenido por Soxhlet de cultivares Collinson y Barker (2.30 y 2.05 meq Kg<sup>-1</sup>, respectivamente).

Cuadro 8. Índice de acidez (%), peróxidos (meq  $O_2$  Kg<sup>-1</sup>), yodo (g  $I_2$ 100 g<sup>-1</sup>) y saponificación (mg KOH g<sup>-1</sup>) del aceite extraído por centrifugado de *P. schiedeana*.

			Índices			
Aceite	Accesión	Sal (5 %)	Acidez	Peróxidos	Yodo	Saponificación
T 1	Ixp	CaCO <sub>3</sub>	1.07 a	2.44 a	61.80 a	169.19 ab
T 2	Ixp	NaCl	0.97 b	3.02 a	56.32 a	170.84 ab
T 3	M1	CaCO <sub>3</sub>	0.58 b	3.06 a	58.90 a	172.43 ab
T 4	M1	NaCl	0.51 b	2.38 a	52.29 a	171.98 ab
T 5	M2	CaCO <sub>3</sub>	0.87 b	2.47 a	53.86 a	166.59 b
T 6	M2	NaCl	0.52 b	3.64 a	55.51 a	180.95 a

Valores con la misma letra dentro de columnas son estadísticamente iguales con base a la prueba de Tukey ( $p \le 0.05$ ).

# Índice de yodo

El índice de yodo es un indicador donde a mayor cantidad de dobles enlaces en los ácidos grasos mayor cantidad de yodo absorbido (O'Brien *et al.*, 2005). El aceite de chinene analizado en este estudio, presentó el mismo grado de

insaturación entre tratamientos (Cuadro 8), el cual oscilo entre  $52.29 \text{ y } 61.80 \text{ gl}_2 100 \text{ g}^{-1}$ , siendo menores a lo permitido para aceite de aguacate de  $85-90 \text{ gl}_2 100 \text{ g}^{-1}$  (NMX-F-052-SCFI, 2008). Es posible que el grado de insaturación en el aceite de chinene de todos los tratamientos sea menor a lo permitido, debido al bajo porcentaje de ácidos grasos poliinsaturados y la ausencia del ácido linolénico.

El aceite de chinene descrito por Campos-Hernández *et al.* (2011) y Jácome *et al.* (2014) presentó mayor grado de insaturación (84.13 y 66.56-80.26 gl<sub>2</sub> 100 g<sup>-1</sup>), que el obtenido en este estudio. En aceite de aguacate Hass, analizados por Ariza-Ortega *et al.* (2011) y Jorge *et al.* (2015) los índices de yodo fueron mayores (86.67  $\pm$  2.14-80.20  $\pm$  1.45 y 84.13 gl<sub>2</sub> 100 g<sup>-1</sup>, respectivamente). Asimismo, el aceite de los cultivares Fortuna, Collinson y Barker evaluado por Galvão *et al.* (2014) mostraron mayor IY (70.40  $\pm$  0.69, 68.24  $\pm$  1.05 y 64.40  $\pm$  0.49 gl<sub>2</sub> 100 g<sup>-1</sup>, respectivamente).

# Índice de saponificación

El valor o índice de saponificación de un aceite indica el número de miligramos de KOH necesarios para saponificar un gramo de aceite completamente (Restrepo *et al.*, 2012). En los tratamientos del aceite de chinene (Cuadro 8), se observaron diferencias significativas ( $p \le 0.05$ ), sin embargo, todos los tratamientos, excepto T6, están fuera del límite establecido por la norma (177 a 198 mg KOH g<sup>-1</sup>). El aceite de chinene analizado por Campos-Hernández *et al.* (2011) y Jácome *et al.* (2014) presentó mayor IS (197.13 y 170.56-180.28 mg KOH g<sup>-1</sup> respectivamente), al encontrado en este estudio. Diversos autores han reportado IS mayores al encontrado en éste estudio, Jiménez *et al.* (2001), Ortiz *et al.* (2004), Salgado *et al.* (2008) y Hamzah (2013) (203 a 262, 168 a 273, 184.10 y194 mg KOH g<sup>-1</sup>, respectivamente).

Se ha encontrado que la extracción de aceite por prensado en frío y fluidos supercríticos evita la hidrólisis de los aceites, lo que se refleja en mayor IS (Restrepo et al., 2012). Por otra parte, Jorge et al. (2015) obtuvo mayor IS en

aceite obtenido por centrifugación (195.79 ± 0.07 mg KOH g<sup>-1</sup>) y Galvão *et al.* (2014) en aceite de los cultivares Collinson y Barker (173.7 ± 4.45 y 175.0 ± 3.67 mg KOH g<sup>-1</sup>), sin embargo, en el cultivar Fortuna fue menor (119.5 ± 9.92 mg KOH g<sup>-1</sup>) al obtenido en este estudio. Los aceites vegetales con valores altos de IS indican la presencia de mayor cantidad de ácidos grasos de cadena larga como ácido linoleico y linolénico (Kevin y David, 2003). Posiblemente el IS en el T6 es superior a todos los tratamientos porque fue el aceite donde se registró mayor presencia de los ácidos linoleico y oleico.

### **Densidad**

La densidad de los aceites líquidos es dependiente de la composición de sus ácidos grasos (Przybylski *et al.*, 2005), así también del tiempo y temperatura al cual son sometidos. La densidad del aceite de la pulpa de frutos de chinene Figura 3) osciló entre 0.913 y 0.921 gcm<sup>-3</sup> a 20 °C. Todos los tratamientos cumplen con la Norma Mexicana (NMX-F-052-SCFI-2008) para aceite de aguacate que establece de 0.911 a 0.920 gcm<sup>-3</sup> a 25 °C. T4 fue el tratamiento que presentó mayor densidad a 20 °C (0.921 gcm<sup>-3</sup>) que está relacionado a que fue la muestra con mayor contenido de ácido oleico (61.46 %) y menor de ácido linoleico (0.54 %).

La densidad evaluada por Jácome *et al.* (2014) es similar al encontrado en este estudio para T1 (0.91 gcm<sup>-3</sup>) a 20 °C, donde las muestras de aceite analizadas por los autores presentaron menor presencia de ácido oleico (53.70 %). Valores similares fueron reportados en aceite de aguacate comercial prensado y refinado (0.91-0.92 gcm<sup>-3</sup>) (Cibaria, 2013). Asimismo, Jiménez *et al.* (2001) en aceite de aguacate Hass deshidratado con microondas y estufa convencional y obtenido por Soxhlet empleando éter y hexano obtuvieron (0.908 a 0.917 gcm<sup>-3</sup>). Aceite de aguacate con menor densidad fue descrito por Galvão *et al.* (2014) en la variedad Fortuna y Barker con 0.905 y 0.910 gcm<sup>-3</sup>, respectivamente y mayor en la variedad Collinson con 0.927 gcm<sup>-3</sup>. Sin embargo, aceite de aguacate Hass con menor densidad fue descrito por Ortiz-Moreno *et al.* (2003) con 0.901 a 0.910 gmL<sup>-1</sup>.

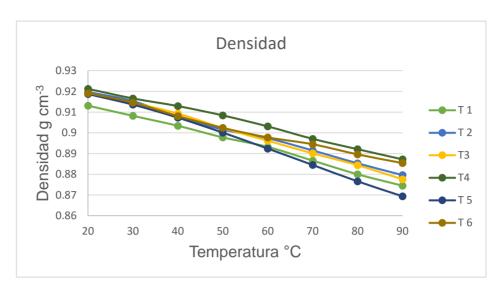


Figura 3. Densidad del aceite de *P. schiedeana* de 20 a 90 °C obtenido por centrifugado.

Asimismo, Restrepo *et al.* (2012) reportaron menor densidad en aceite de aguacate obtenido por Soxhlet ( $0.874 \pm 0.05$ ) al obtenido en todos los tratamientos de aceite de chinene; valores similares fueron reportados en aceite obtenido por prensado en frío y por fluido supercrítico ( $0.914 \pm 0.03$  y  $0.915 \pm 0.04$  gcm<sup>-3</sup>, respectivamente). La densidad es una característica importante de cualquier sustancia, es una medida de la masa por unidad de volumen de la sustancia y es altamente sensible a la temperatura (Esteban *et al.*, 2012).

### Viscosidad dinámica

La viscosidad dinámica del aceite de chinene oscilo entre 108.92 y 119.30 mPas<sup>-1</sup> (Figura 4). Existen pocos datos acerca de la viscosidad dinámica en aceite de aguacate y chinene. En aceite de chinene evaluado por Jácome *et al.* (2014) la viscosidad estuvo entre 81.53 y 84.44 mPas<sup>-1</sup> menor al obtenido en este estudio. En aceite de aguacate, descrito por Diamante y Lan (2014) se encontró menor viscosidad al obtenido en aceite de chinene (28.7 mPas<sup>-1</sup>), el cual se caracterizó por tener menor cantidad de ácidos grasos monoinsaturados y saturados, por lo que el alto contenido de poliinsaturados causo la disminución de la viscosidad.

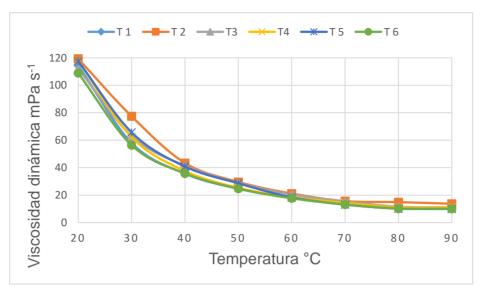


Figura 4. Viscosidad dinámica (20-90 °C) del aceite de *P. schiedeana* obtenido por centrifugado

### Viscosidad cinemática

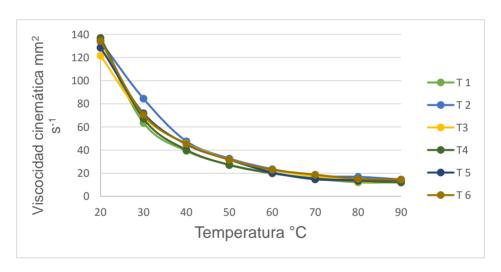


Figura 5. Viscosidad cinemática del aceite de *P. schiedeana* obtenido por centrifugado.

La viscosidad cinemática del aceite de P. schiedeana se muestra en la Figura 5. En aceite de chinene evaluado por Jácome  $et\ al$ . (2014) encontraron muestras con viscosidad similar al obtenido en este estudio. Ortiz-Moreno  $et\ al$ . (2003) reportaron mayor viscosidad en aceite de aguacate (P. americana) obtenido por microondas y frio, microondas y hexano, hexano y acetona, en donde el aceite obtenido con hexano y acetona incremento debido a la formación de dímeros y polímeros (20  $\pm$  0.8 y 35  $\pm$  1.8 mm $^2$ s $^{-1}$ , respectivamente).

### Calor de combustión

El valor calorífico de los tratamientos del aceite de chinene (Cuadro 10) se ubicaron en el intervalo de 30.99 a 32.88 MJKg<sup>-1</sup> los cuales mostraron diferencias significativas ( $p \le 0.05$ ). El aceite de aguacate, estudiado por Diamante y Lan (2014) presentó mayor valor calorífico (33.70 MJKg<sup>-1</sup>). El calor de combustión de los aceites vegetales es superior cuando éstos poseen una mayor cantidad de ácidos grasos de cadena larga (Knothe, 2010) e incrementa de acuerdo a la longitud de ésta (Levine *et al.*, 2014).

Cuadro 9. Calor de combustión (MJKg<sup>-1</sup>) del aceite extraído por centrifugado de la pulpa de *P. schiedeana*.

١.	. comeacanai							
	Tratamiento	Accesión	Sal	Calor de combustión				
	T1	Ixp	CaCO <sub>3</sub>	31.84 c				
	T2	Ixp	NaCl	32.86 a				
	T3	M1	CaCO <sub>3</sub>	31.71 d				
	T4	M1	NaCl	30.99 f				
	T5	M2	CaCO <sub>3</sub>	32.01 b				
	T6	M2	NaCl	31.43 e				

Valores con la misma letra dentro de columnas son estadísticamente iguales con base a la prueba de Tukey ( $p \le 0.05$ ).

### 4.4 CONCLUSIONES

Los frutos Ixp presentaron mayor cantidad de aceites totales obtenido por Soxhlet (24.99 %). El mayor rendimiento de extracción por centrifugado se obtuvo con frutos Ixp utilizando CaCO<sub>3</sub> al 5%. El aceite se caracterizó por ser de color verde traslúcido y con precipitación blanca en todos los tratamientos. La formación de ácidos grasos libres y la formación de peróxidos en todos los tratamientos cumple con la especificación permitida para aceite de aguacate, sin embargo, el grado de insaturación de todos los tratamientos está fuera de especificación y en el índice de saponificación únicamente el T6 cumple con lo permitido. El principal ácido graso insaturado en el aceite de chinene fue el oleico al cual se le confieren efectos benéficos a la salud humana.

# **4.5 REFERENCIAS**

Anlauf, H. (2007). Recent developments in centrifuge technology. Separation and Purification Technology, 58(2), 242-246. doi:10.1016/j.seppur.2007.05.012

Ariza-Ortega, J. A., Díaz-Reyes, J., Robles-De-La-Torre, R. R., & Delgado-Macuil, R. J. (2010). Analysis spectroscopic by Fourier transform infrared of butter made from vegetable oil and pure cow milk subjected at thermo-oxidation processes. Journal of Materials Science and Engineering, 4(6).

Ariza-Ortega, J. A., Delgado-Macuil, R. J., Robles-de-la-Torre, R. R., López-Valdés, F., Coyotl-Huerta, J., Ramos-Cassellis, M. E., & Soriano-Morales, A. (2011). Efecto del campo eléctrico sobre el aceite de aguacate almacenado a varios tiempos. Ingeniería Agrícola y Biosistemas, 3(2), 67-73. doi: doi: 10.5154/r.inagbi.2011.11.005

Azizi, S. N., & Najafzadeh, S. (2008). Fatty acids and volatile compounds in avocado cultivated in North of Iran. World Applied Sciences Journal, 5(1), 1-4.

Benavides Paz, Y., Cardona Salazar, B. L., Restrepo Duque, A. M., Londoño-Londoño, J., & González Álvarez, D. (2012). Comparación del aceite de aguacate variedad Hass cultivado en Colombia, obtenido por fluidos supercríticos y métodos convencionales: una perspectiva desde la calidad. Revista Lasallista de Investigación,, Julio-Diciembre, 151-161.

Bizimana, V., Breene, W. M., & Csallany, A. S. (1993). Avocado oil extraction with appropriate technology for developing countries. . Journal of the American Oil Chemists' Society, 70(8), 821-822. doi:10.1007/BF02542610

Bora, P. S., Narain, N., Rocha, R. V. M., & Paulo, M. Q. (2001). Characterization of the oils from the pulp and seeds of avocado (cultivar: Fuerte) fruits. Grasas y Aceites, 52(3-4), 171-174.

Buenrostro, M., & López-Munguia, A. C. (1986). Enzymatic extraction of avocado oil. Biotechnology Letters. Biotechnology Letters, 8(7), 505-506. doi:10.1007/BF01025210

Campos-Hernández, N., Cruz-Castillo, J. G., Hernández-Montes, A., & Rubio-Hernández, D. (2011). Aceite de frutos de Persea schiedeana en sobremaduración y cosechados de árboles en estado silvestre. Universidad y Ciencia, 27, 179-189.

Cibaria (2013). Avocado oil. Refined. Retrieved 17-10-2014, 2014, from http://www.cibaria-intl.com/shop/index.php/cibaria-oils-and-organic-oils

Costagli, G., & Betti, M. (2015). Avocado oil extraction processes: method for cold-pressed high-quality edible oil production versus traditional production. Journal of Agricultural Engineering, 46(3), 115. doi:10.4081/jae.2015.467

Diamante, L. M., & Lan, T. (2014). Absolute Viscosities of Vegetable Oils at Different Temperatures and Shear Rate Range of 64.5 to 4835 s-1. Journal of Food Processing, 2014, 1-6. doi:10.1155/2014/234583

- Esteban, B., Riba, J.-R., Baquero, G., Rius, A., & Puig, R. (2012). Temperature dependence of density and viscosity of vegetable oils. Biomass and Bioenergy, 42(0), 164-171. doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.biombioe.2012.03.007
- Galvão, M. d. S., Narain, N., & Nigam, N. (2014). Influence of different cultivars on oil quality and chemical characteristics of avocado fruit. Food Science and Technology (Campinas), 34(3), 539-546. doi:10.1590/1678-457x.6388
- Hamzah, B. (2013). The Effect of Homogenization Pressures on Extraction of Avocado Oil by Wet Method. Advance Journal of Food Science and Technology, 5(12), 1666-1668.
- Jácome-Rincón, J., Cruz-Castillo, J. G., Guerra-Ramirez, D., Espinoza-Solares, T. (2014). Caracterización fisicoquímica de frutos de *Persea schiedeana* Nees de la región de Huatusco, Veracruz.
- Jiménez, M. E., Aguilar, M. d. R., Zambrano, M. d. I. L., & Kolar, E. (2001). Propiedades físicas y químicas del aceite de aguacate obtenido de puré deshidratado por microondas. Journal of the Mexican Chemical Society, 45(2), 89-92.
- Joaquín Martínez, M. C. C., Juan Guillermo; De La Cruz Medina, Javier; Ángel, & Coronel, Ó. d. (2007). Distribución ecogeográfica y características del fruto de persea schiedeana nees. en los Tuxtlas, Veracruz, México. Revista Fitotecnia Mexicana, Vol. 30 (4), 403 410.
- Jorge, T. D. S., Polachini, T. C., Dias, L. S., Jorge, N., & Telis-Romero, J. (2015). Physicochemical and rheological characterization of avocado oils. . Ciência e Agrotecnologia, 39(4), 390-400.
- Kevin, S., & David, S. N. (2003). The Nomenclature, Structure, and Properties of Food Lipids Chemical and Functional Properties of Food Lipids: CRC Press.
- Knothe, G. (2013). Avocado and olive oil methyl esters. Biomass and Bioenergy, 58, 143-148. doi:10.1016/j.biombioe.2013.09.003
- Knothe, G., GerpLevineen, J. V., & Krahl, J. (2010). Technical Tables The Biodiesel Handbook: AOCS Publishing.
- Landucci, G., Pannocchia, G., Pelagagge, L., & Nicolella, C. (2013). Analysis and simulation of an industrial vegetable oil refining process. Journal of Food Engineering, 116(4), 840-851. doi:10.1016/j.jfoodeng.2013.01.034
- Levine, F., Kayea Iii, R., Wexler, R., Sadvary, D. J., Melick, C., & La Scala, J. (2014). Heats of Combustion of Fatty Acids and Fatty Acid Esters. Journal of the American Oil Chemists' Society, 91(2), 235-249. doi:10.1007/s11746-013-2367-0
- Lu, Q. Y., Zhang, Y., Wang, Y., Wang, D., Lee, R. P., Gao, K., ... & Heber, D. (2009). California Hass avocado: profiling of carotenoids, tocopherol, fatty acid, and fat content during maturation and from different growing areas. Journal of agricultural and food chemistry, 57(21), 10408-10413.

- Marroquín-Andrade, L., Cuevas-Sánchez, J. A., Guerra-Ramírez, D., Reyes, L., Reyes-Chumacero, A., & Reyes-Trejo, B. (2011). Proximate composition, mineral nutrient and fatty acids of the seed of ilama, Annona diversifolia Saff. Scientific Research and Essays, 6(14), 3089-3093. doi: ISSN 1992-2248
- Meyer, M. D., & Terry, L. A. (2008). Development of a Rapid Method for the Sequential Extraction and Subsequent Quantification of Fatty Acids and Sugars from Avocado Mesocarp Tissue. J Agric Food Chem, 56(16), 7439-7445. doi: 10.1021/jf8011322
- NMX-F-052-SCFI. (2008). Aceites y grasas. Aceite de aguacate. Especificaciones (pp. 10). México: Diario Oficial de la Federación.
- O'Brien, R. D., Jones, L. A., King, C. C., Wakelyn, P. J., & Wan, P. J. (2005). Cottonseed Oil Bailey's Industrial Oil and Fat Products: John Wiley & Sons, Inc.
- Ortiz, M. A., Dorantes, A. L., Gallndez, M. J., & Cardenas, S. E. (2004). Effect of a novel oil extraction method on avocado (Persea americana Mill) pulp microstructure. Plant Foods for Hum Nutrution, 59(1), 11-14.
- Ozdemir, F., & Topuz, A. (2004). Changes in dry matter, oil content and fatty acids composition of avocado during harvesting time and post-harvesting ripening period. Food Chemistry, 86(1), 79-83. doi:10.1016/j.foodchem.2003.08.012
- Prescha, A., Grajzer, M., Dedyk, M., & Grajeta, H. (2014). The Antioxidant Activity and Oxidative Stability of Cold-Pressed Oils. Journal of the American Oil Chemists' Society, 91(8), 1291-1301. doi:10.1007/s11746-014-2479-1
- Przybylski, R., Mag, T., Eskin, N. A. M., & McDonald, B. E. (2005). Canola Oil Bailey's Industrial Oil and Fat Products: John Wiley & Sons, Inc.
- Reddy, M., Moodley, R., & Jonnalagadda, S. B. (2012). Fatty acid profile and elemental content of avocado (Persea americana Mill.) oil –effect of extraction methods. Journal of Environmental Science and Health, Part B, 47(6), 529-537. doi:10.1080/03601234.2012.665669
- Rendón-Cantillano, J. L. (2003). Caracterización física y química del fruto y del aceite de sucte (Persea schiedeana). (Ingeniero en Agroindustria), Escuela Agrícola Panamericana Zamorano, Honduras.
- Richard, D., Kefi, K., Barbe, U., Bausero, P., & Visioli, F. (2008). Polyunsaturated fatty acids as antioxidants. Pharmacological Research, 57(6), 451-455. doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.phrs.2008.05.002
- Salgado, J. M., Danieli, F., Regitano-D'arce, M. A. B., Frias, A., & Mansi, D. N. (2008). O óleo de abacate (Persea americana Mill) como matéria-prima para a indústria alimentícia. Food Science and Technology (Campinas), 28, 20-26.
- Takenaga, F., Matsuyama, K., Abe, S., Torii, Y., & Itoh, S. (2008). Lipid and Fatty Acid Composition of Mesocarp and Seed of Avocado Fruits Harvested at Northern Range in Japan. Journal of Oleo Science, 57(11), 591-597. doi:10.5650/jos.57.591

Villa-Rodríguez, J. A., Molina-Corral, F. J., Ayala-Zavala, J. F., Olivas, G. I., & González-Aguilar, G. A. (2011). Effect of maturity stage on the content of fatty acids and antioxidant activity of 'Hass' avocado. Food Research International, 44(5), 1231-1237. doi:10.1016/j.foodres.2010.11.012

Werman, M. J. N., I. (1987). Avocado oil production and chemical characteristics. Journal of Analysis Oil Chemist's Society, Journal of Analysis Oil Chemist's Society, 229-232.

.

# V BIODIESEL A PARTIR DE FRUTOS DE DESECHO DE Persea schiedeana Nees

# BIODIESEL OBTAINED BY WASTE FRUITS OF *Persea*schiedeana Nees

### RESUMEN

El biodiesel es una mezcla de ésteres monoalquílicos de ácidos grasos derivados de aceites vegetales o grasas animales. Los residuos agrícolas son una fuente potencial de materias primas para generar biocombustibles. En este trabajo se obtuvo biodiesel empleando como materia prima el aceite aislado de los frutos, sobremaduros y deteriorados por plaga Hellipus lauri, de Persea schiedeana, colectados en la comunidad Michapa del municipio de Huatusco, Veracruz. La maceración de los frutos con hexano dio como resultado la obtención de un aceite con un alto porcentaje de ácidos grasos libres (8.36 %). Este aceite fue sometido a un pre-tratamiento con metanol en medio ácido y posteriormente se transesterificó con metanol en medio alcalino para obtener biodiesel y glicerina. Los componentes principales del biodiesel fueron oleato de metilo (53.12 %) y palmitato de metilo (25.74 %). La viscosidad dinámica del biodiesel cumple con las normas ASTM D6751 y EN 14214 y las mezclas de biodiesel con diésel comercial cumplen con la ASTM D675, el valor calórico mostro un incremento al aumentar la concentración de biodiesel en las mezclas. Este estudio demuestra que el aceite obtenido de los frutos, sobremaduros y excedentes de producción, de P. schiedeana, es una materia prima viable para producir un combustible que sustituya al diésel.

Palabras clave: Biodiesel. Persea schiedeana.

### **ABSTRACT**

Biodiesel is a mixture of monoalkyl esters of fatty acids derived from vegetable oils or animal fats. Agricultural waste is a potential source of raw materials to produce biofuels. In this work was obtained biodiesel using feedstock oil isolated

Tesis de Maestría en Ciencias en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria, Universidad Autónoma Chapingo

Autor: Anallely López Yerena

Director de Tesis: Dr. Juan Guillermo Cruz Castillo

fruits, overripe and damaged by plague *Hellipus lauri*, of *Persea schiedeana* collected in Michapa of Huatusco, Veracruz. The maceration of the fruit with hexane resulted in obtaining an oil with a high percentage of free fatty acids (8.36 %). This oil was subjected to pre-treatment with methanol in acid medium and subsequently transesterified with methanol in alkaline medium to obtain biodiesel and glycerol. The main components of biodiesel were methyl oleate (53.12 %) and methyl palmitate (25.74 %). The dynamic viscosity of biodiesel ASTM D6751 meets the standards EN 14214 and biodiesel blends with commercial diesel ASTM D675 meet, the caloric value showed an increase by increasing the concentration of biodiesel in the mixtures. This study shows that the oil obtained from the fruit, overripe and excess production, *P. schiedeana*, is a raw material viable option for producing a fuel that substitute to diesel.

**Key words:** Biodiesel, *Persea schiedeana*.

### 5.1 INTRODUCCIÓN

Los frutos de *P. schiedeana* son atacados por el barrenador *Hellipus lauri* desde los primeros días después del amarre, ocasionando el aborto de los frutos, además, la plaga ataca durante todo el ciclo del desarrollo del fruto, ocasionando pérdidas considerables (Castañeda-Vildózola *et al.*, 2009). Otro factor que ha limitado su desarrollo comercial ha sido su corta vida en postcosecha (8 días) siendo un fruto muy perecedero con alta tasa de respiración (Del Ángel-Coronel *et al.*, 2010). Algunos autores han tratado de examinar el potencial de la semilla de aguacate como fuente de energía alternativa, amigable con el medio ambiente (Rachimoellah *et al.*, 2010).

La disminución de combustibles fósiles y el impacto ambiental que ocasiona su uso, son los principales motivos para la búsqueda de combustibles alternativos a partir de recursos renovables. La necesidad de reducir las emisiones de gases de efecto invernadero han incrementado la demanda de aceites vegetales en la industria alimentaria, química y de biodiesel (Reyes-Trejo *et al.*, 2014). El interés en el uso de combustibles renovables inició con el uso directo de aceites vegetales como sustituto del diésel (Dermibas, 2009). El biodiesel, término común para los ésteres metílicos de ácidos grasos, se ha considerado como un recurso renovable, biodegradable y biocombustible que no es tóxico y es una gran promesa para la sustitución de combustible diésel (Lai *et al.*, 2012).

El proceso más utilizado para producir biodiesel ha sido hasta la fecha, la transesterificación, que es una reacción entre el aceite y un alcohol para obtener los ésteres monoalquílicos de los ácidos grasos (biodiesel) y glicerina (Mazutti et al., 2013). Dos de las propiedades termofisicas más importantes del biodiesel son la viscosidad y el calor específico (Fasina y Colley, 2008). La viscosidad absoluta se define como la resistencia al flujo y cizallamiento debido a la fricción interna. Por el contrario, la viscosidad cinemática es la resistencia al flujo y cizallamiento debido a la gravedad (Diamante y Lan, 2014). El biodiesel es considerado como el mejor sustituto del diésel y puede ser utilizado puro o en mezclas biodiesel/diésel, presentando ventajas ambientales, económicas, sociales y técnicas (Guarieiro et al., 2008). El objetivo de esta investigación fue determinar la utilidad de frutos de *Persea schiedeana* (sobremaduros, deshidratados y con presencia de plaga) como fuente potencial para ser transformado en biodiesel por transesterificación alcalina.

## **5.2 MATERIALES Y MÉTODOS**

## 5.2.1 Extracción de aceite por maceración

La pulpa y cáscara de frutos de *Persea schiedeana* (sobremaduros, con 14.89 % humedad y presencia de plaga *Hellipus lauri*), fueron cortados en trozos pequeños y colocados en un frasco. El material vegetal se cubrió totalmente con hexano y se dejó reposar (56 h). Al finalizar, el disolvente fue removido en un rotavapor (Büchi Rotovapor, Büchi Labortechnik AG, Flawil, Switzerland) aplicando vacío y en baño de vapor a 40 °C. Para optimizar la extracción de aceite se proceso de extracción se repitió dos veces más. El aceite obtenido fue pesado y colocado en un frasco ámbar hasta su análisis y el porcentaje de aceite obtenido fue calculado de acuerdo a la siguiente ecuación, donde W es el contenido de humedad (%), Z es el peso del aceite extraído (g) y m es el peso de la muestra de pulpa (g).

Contenido de aceite (%) = 
$$\frac{(100 - W) * Z}{m}$$

El porcentaje de aceite recuperado obtenido por maceración se calculó de acuerdo a la siguiente ecuación, donde m<sub>2</sub> es el aceite obtenido por Soxhlet (Capitulo 4) y m<sub>1</sub> el aceite obtenido por maceración.

$$Aceite\ recuperado\ (\%) = \frac{(100*m_2)}{m_1}$$

## Perfil de ácidos grasos

El aceite obtenido por maceración presentó un alto porcentaje de AGL (8.36 %), por lo tanto, fue sometido a una reacción de esterificación ácida siguiendo la metodología de Zhang y Jiang (2008) con modificaciones. El aceite (100 g) fue mezclado con 100 mL de metanol-ácido sulfúrico (96:4 v/v). La mezcla fue colocada a reflujo y agitación constante (2 h). Transcurrido el tiempo de reacción la mezcla fue colocada en un embudo de separación y la parte superior de metanol-ácido sulfúrico fue removida. El aceite pretratado se lavó con agua destilada a pH 7, para asegurar la eliminación completa del ácido. Al final el aceite fue secado con sulfato de sodio anhídro.

Después del pretratamiento, al aceite fue sometido a una reacción de transesterificación alcalina de acuerdo con Marroquín-Andrade *et al.* (2011). La mezcla de reacción 0.25:1 de metanol/aceite (v/p) y 0.7 % de KOH respecto al peso del aceite fue colocado a reflujo y agitación constante durante 2 h. Transcurrido el tiempo, la mezcla de reacción se transfirió a un embudo de separación y se dejó durante 24 h hasta observar la separación de fases, la fase superior consistente en los ésteres metílicos de ácidos grasos y la inferior de glicerina.

Después de descartar la glicerina, los ésteres metílicos fueron tratados subsecuentemente con ácido citríco al 0.1 % y agua caliente. Finalmente, los FAME fueron secados con sulfato de sodio anhidro. El espectro NMR de los FAME fue grabado en un espectrofotómetro Agilent operado a 400 MHz (1H NMR). La concentración de la muestra usada fue de 5-10 % en CDCL3, conteniendo tetrametilsilano (TMS) como referencia interna.

Los FAME se analizaron por cromatografía de gases en un equipo marca Agilent 6890 con un detector de ionización de flama (FID), utilizando una columna AT-FAME (30 m x 0.25 mm d.i. x 0.25 µm de espesor de película). La temperatura inicial del horno fue de 180 °C y se establecieron rampas de 10 °C min-1 hasta alcanzar una temperatura final de 230 °C. Tanto en el inyector como en el detector, la temperatura fue de 250 °C. Se utilizó hidrógeno como gas acarreador, a una velocidad de flujo de 1.8 mLmin-1. Como estándar se utilizaron FAME´s, cuyos tiempos de retención fueron utilizados para cuantificar los ésteres metílicos en la muestra.

## Propiedades fisicoquímicas del aceite

### Propiedades químicas del aceite

Los parámetros, índice de acidez, peróxidos, yodo y saponificación fueron analizados por triplicado, de acuerdo a los métodos de la Organización Internacional de Normalización (ISO): índice de acidez (ISO 660:2009), índice de saponificación (ISO 3657:2013), índice de peróxidos (ISO 3960:2007) y el índice de yodo (ISO 3961:2013).

### Propiedades físicas del aceite y biodiesel

El biodiesel obtenido de los frutos de chinene fue mezclado a diferentes concentraciones con diésel comercial (0, 5, 10, 20, 30, 40 y 100 % de biodiesel). La viscosidad dinámica y cinemática así como la densidad fueron determinadas al aceite, biodiesel y la mezclas diesel/biodiesel en diferentes proporciones, en un viscosímetro (Anton Paar modelo SVM 3000, tipo Stabinger, viscosímetro dual y medidor de densidad) de acuerdo a la norma ASTM D7042). El calor de combustión del aceite, biodiesel y las mezclas de biodiesel de chinene fueron determinados de acuerdo con el método ASTM D240. Los valores fueron expresados en MJKg<sup>-1</sup>.

# **5.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

# 5.3.1 Extracción de aceite por maceración

El rendimiento de aceite obtenido por maceración de los frutos de *P. schiedeana*, representa un 93.23 %, comparado con el proceso de extracción exhaustiva por Soxhlet (Capítulo 4). Este rendimiento fue superior al aceite obtenido de frutos de chinene sobremaduros por maceración (12.12 %) con la mezcla isopropanol/hexano (Campos-Hernández *et al.*, 2011), como al 24.7-36 % procedente de los frutos de chinene de la región de los Tuxtlas, Veracruz, (Cruz-Castillo *et al.*, 2007).

El aceite de chinene presentó alto porcentaje de AGL (8.36 %), mayor al especificado por la norma para aceite de aguacate (1.5 %). La rancidez hidrolítica ocurre como resultado de la separación de una molécula de triglicérido en el enlace éster con la formación de AGL, los cuales pueden contribuir olores, sabores y otras características indeseables. Los sabores resultantes del desarrollo de los AGL dependen de la composición del aceite, la liberación de ácidos grasos de cadena corta, como butírico, caproico y caprico, causan particularmente olores y sabores desagradables, mientras que los ácidos grasos de cadena larga, palmitoleico, oleico, linoleico, entre otros: producen sabores a cera o jabonosos (Canapi et al., 2005). Los ácidos grasos libres pueden ser liberados desde los triacilglicéridos por enzimas llamadas lipasas. En tejidos vivos, la actividad de las (fosfo) lipasas está estrictamente controlada desde los ácidos grasos que pueden ser citotóxicos por el rompimiento de la integridad de la membrana celular. Durante el procesamiento y almacenamiento de los tejidos biológicos usados como materia prima en alimentos, la estructura celular y los mecanismos de control bioquímico pueden ser destruidos y las lipasas pueden llegar a activarse (Damodaran, 2007). El aceite de chinene obtenido por maceración de frutos sobremaduros presentó un porcentaje inferior de AGL (Campos-Hernández et al., 2012). Sin embargo la extracción del aceite de P. schiedeana por centrifugación asistido con microondas (Jácome et al., 2014) dio como resultado un alto porcentaje de AGL atribuido a la hidrolisis de los triglicéridos debido a las microondas con la producción de los mismos.

Cuadro 10. Propiedades químicas del aceite obtenido por maceración de *P. schiedeana* <sup>1</sup>Este estudio <sup>2</sup>Campos-Hernández *et al.* (2011) <sup>3</sup>Jácome *et al.* (2014) <sup>4</sup>NMX-F-052-SCFI, 2008.

	Ácidos grasos	Yodo (g l <sub>2</sub> 100	Peróxidos (meq O <sub>2</sub>	Saponificación
Aceite	libres (%)	g <sup>-1</sup> )	Kg <sup>-1</sup> )	(mg KOH g <sup>-1</sup> )
1	8.36	75.05	3.99	179.52
2	0.61	84.13	9.67	197.13
3	11.6	80.26	4.09-8.68	180.28
4	1.5	85-90	10	177 a 198

El proceso de oxidación de los AGL y la formación de radicales libres en el aceite de chinene fue de 3.99 meq O<sub>2</sub> Kg<sup>-1</sup>, menor a la especificación permitida para aceite de aguacate (Cuadro 10). El aceite de chinene presentó baja oxidación, debido a la baja proporción de ácido linolénico (0.56 %), siendo menos susceptible a la aparición de olores y sabores indeseables ocasionados por la formación de aldehídos, alcoholes y cetonas causadas por los hidroperóxidos y peróxidos. Aceite de chinene con mayor oxidación fue descrito por Campos-Hernández *et al.* (2011) en aceite obtenido a partir de frutos sobremaduros y por Jácome *et al.* (2014) en aceite obtenido por centrifugación asistida con microondas. La susceptibilidad de los ácidos grasos a la oxidación está relacionado directamente con su grado de insaturación (Richard *et al.*, 2008 y Zuleta *et al.*, 2012).

El aceite de *P. schiedeana* analizado en éste estudio presentó menor grado de insaturación (75.05 gl<sub>2</sub> 100 g<sup>-1</sup>) al intervalo especificado en la norma mexicana para aceite de aguacate. El aceite de chinene descrito por Campos-Hernández *et al.* (2011) y Jácome *et al.* (2014) presentó mayor grado de insaturación que el obtenido en este estudio. Un alto IY se ha relacionado con la baja estabilidad oxidativa, causando la formación de diversos productos de la degradación, que pueden afectar negativamente la operabilidad del motor mediante la formación

de depósitos en los inyectores, aros de pistón y las ranuras de los segmentos del motor. Los efectos de la degradación oxidativa representan una preocupación en cuanto al mantenimiento de la calidad del combustible diésel. El combustible puede oxidar más rápidamente que el combustible diésel convencional, en particular cuando el primero se produce a partir de fuentes altamente insaturadas (Pinzi *et al.*, 2009).

El valor de saponificación sirve para obtener una estimación del largo de la cadena de los ácidos grasos (Nielsen, 2010). El aceite de *P. schiedeana* obtenido por maceración presentó 179.52 mg KOH g<sup>-1</sup>, el cual cumple con la especificación permitida para aceite de aguacate. El aceite de chinene analizado por Campos-Hernández *et al.* (2011) y Jácome *et al.* (2014) presentó mayor IS que el obtenido en este estudio.

## Propiedades del biodiesel

El biodiesel, una alternativa al combustible diésel, es obtenido a partir de fuentes biológicas renovables como los aceites vegetales y grasas animales (Ma y Hanna, 1999). La conversión del aceite de *P. schiedeana* a biodiesel, realizada con transesterificación alcalina después del pretratamiento con ácido sulfúrico, alcanzó el 100% de conversión. La alcoholisis de aceites vegetales depende de la temperatura y tiempo de reacción, relación molar alcohol:aceite vegetal, tipo de alcohol, tipo y concentración de catalizador, intensidad del mezclado y contenido de ácidos grasos libres (AGL) y humedad (Rojas-González *et al.*, 2010).

En la Figura 6 se muestra el espectro de resonancia magnética nuclear de hidrógeno (RMN-¹H) del biodiesel obtenido por la reacción de transesterificación del aceite de chinene, este espectro muestra las señales características del biodiesel metílico (Knothe, 2013). En 5.35 ppm se observó una señal múltiple

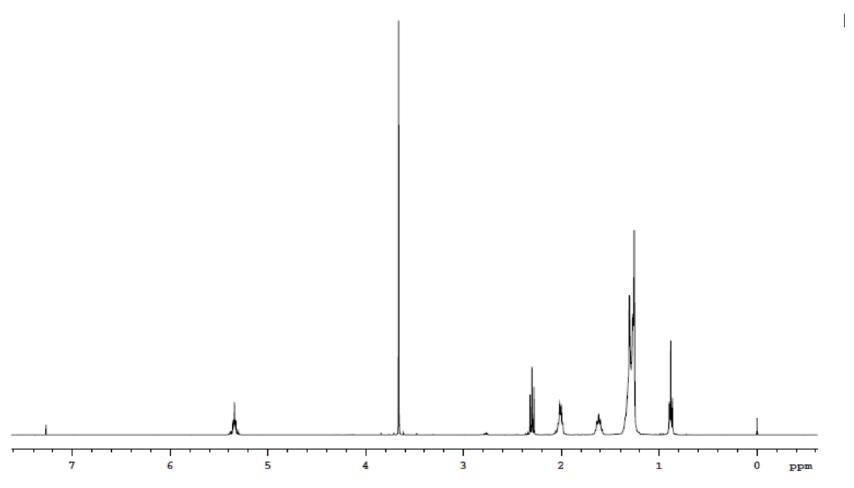


Figura 6. Espectro RMN-<sup>1</sup>H de los ésteres metilicos de aceite de *P. schiedeana*.

de los protones olefínicos, en  $\delta$  3.67, una señal simple correspondiente a los protones del grupo metoxi, entre 2.77 y 2.80 ppm la señal triple de protones bialílicos. Los metilenos adyacentes al grupo éster se observaron como una señal múltiple entre 2.30 y 2.33 y los protones alílicos múltiples se observaron como una señal a 2.00 ppm, entre 1.60 y 1.65 ppm se observó la señal del metileno ubicado en el C-3 de la cadena. Las señales en el intervalo de 1.27-1.38 se deben a otros protones metilénicos de la cadena del éster del ácido graso y en  $\delta$  0.88-0.91 se observaron los protones metílicos terminales.

## Perfil de ácidos grasos

La influencia de la composición de los ácidos grasos en la velocidad de oxidación del biodiesel es mayor a la influencia de las condiciones ambientales como la luz, aire y la presencia de metales. Los ésteres metílicos de los ácidos grasos monoinsaturados (18:1)son considerados meiores que poliinsaturados (como el linoleato de metilo (18:2 y 18:3) en términos de estabilidad oxidativa (Pinzi et al., 2009). La estabilidad a la oxidación es uno de los principales problemas que afectan la utilización de biodiesel debido a su alto contendio de ésteres metilícos poliinsaturados (Knothe, 2006). En el aceite de chinene evaluado en este estudio (M1), la mayor proporción de ácidos grasos cuantificados correspondió a monoinsaturados (58.7 %), de los cuales el oleico fue el principal (53.1 %), seguido del palmitoleico (5.6 %), además se identificó baja presencia de poliinsaturados como el linoleico y linolénico (4.8 y 0.5 %, respectivamente) (Figura 7).

El aceite de chinene (H3) descrito por Cruz-Castillo *et al.* (2007) presentó menor contenido de ácidos grasos insaturados y el descrito por Joaquín-Martínez *et al.* (2007) mayor contenido de ácidos grasos saturados (C) al obtenido en este estudio. El aceite de chinene (H2) analizado por Jácome *et al.* (2014) presentó mayor presencia de ácidos grasos polinsaturados al obtenido en este estudio. En aceite de aguacate Hass (AH) descrito por Jorge *et al.* (2015) hubo mayor presencia de ácido oleico y linoleico (54.72 y 13.22 %, respectivamente).

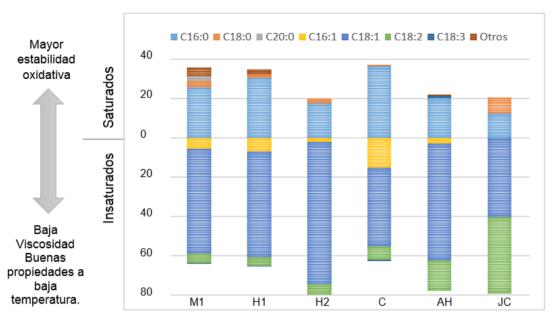


Figura 7 Perfil de ácidos grasos del aceite de *P. schiedeana* extraído por maceración comparado con otros aceites.

Aceites que incluyan altos porcentajes de esteres metílicos de ácidos grasos monoinsaturados de 16 a 18 carbonos son ideales para su conversión a biodiesel (Pinzi *et al.*, 2009) como el aceite de *Jatropha curcas* (JC) mostrado en la Figura 6. El aceite de chinene presentó mayor proporción de ácidos grasos monoinsaturados, por lo tanto, es una fuente viable para la obtención de biodiesel.

## Propiedades mecánicas y valor calorífico del aceite y biodiesel

### **Densidad**

La densidad del aceite, diésel, biodiesel y sus respectivas mezclas (B5, B10, B20, B30 y B40) de frutos de *P. schiedeana* se muestran en la Figura 8, donde al incrementar la temperatura en todos los tratamientos disminuyo la densidad. La densidad del aceite cumple con la especificación permitida por la NMX-F-052-SCFI-2008 para aceite de aguacate (0.910 a 0.920 gcm<sup>-3</sup>). Asimismo, a 20 °C se encuentra en el intervalo para aceites líquidos (0.909-0.921 gcm<sup>-3</sup>) (Shahidi, 2005); con valores similares al aceite comercial prensado y refinado de aguacate de 0.912 a 0.923 gcm<sup>-3</sup> (Cibaria, 2013). La densidad de los aceites

líquidos es dependiente de la composición de sus ácidos grasos (Przybylski *et al.*, 2005), así también del tiempo y temperatura al cual son sometidos; disminuye linealmente con el incremento de la temperatura (Esteban *et al.*, 2012). El biodiesel obtenido a partir de frutos de chinene, cumple con la especificación permitida por International Standar (EN 14214 2003, método ISO 3675, ISO 12185) de 860 a 900 Kgm<sup>-3</sup> a 15 °C.

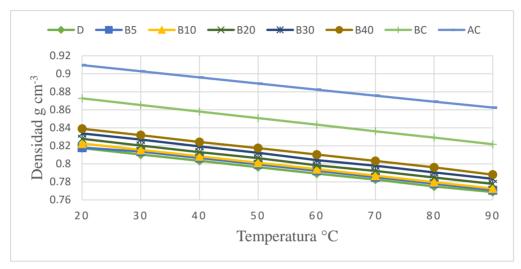


Figura 8. Densidad del aceite, biodiesel y mezclas de biodiesel.

### Viscosidad dinámica

La viscosidad es uno de los parámetros más importantes que influye en el desempeño de las máquinas. La viscosidad es una especificación de diseño básico para los inyectores de combustible utilizados en los motores diésel y si es demasiado alta hace que los inyectores no funcionen correctamente (Rachimoellah *et al.*, 2009). La viscosidad dinámica del aceite de chinene obtenido por maceración estuvo en el intervalo de 88.90 a 8.14 mPas<sup>-1</sup> de 20 a 90 °C, menor al descrito por Diamante y Lan (2014) en aceite de aguacate a 50 °C (28.7 mPas<sup>-1</sup>). A medida que el biodiesel se enfría, las cadenas de éster pierden movilidad, complicando el flujo y aumentando de este modo la viscosidad dinámica o resistencia al cizallamiento de fluido. La viscosidad también aumenta con el grado de saturación de los ésteres de etilo, y las longitudes de cadena (números de átomos de carbono) presentes en la

composición del biodiesel (Damasceno *et al.*, 2013). La viscosidad es una propiedad importante de combustible que afecta el flujo y características de atomización de un combustible líquido. Este parámetro es útil para evaluar el contenido de éster de metilo de biodiesel en las muestras, ya que existe una correlación entre el contenido de ésteres y la viscosidad: cuanto mayor sea la viscosidad, menor es el contenido de ésteres (Keera *et al.*, 2011).

### Viscosidad cinemática

El principal problema asociado con el uso de aceites vegetales puros como combustible diésel es su alta viscosidad a la comprensión. Entonces, triglicéridos con bajo peso molecular tienen baja viscosidad que aquellos encontrados típicamente en aceite vegetal convencional (Pinzi *et al.*, 2009). La viscosidad cinemática en aceite de chinene obtenido por maceración (Figura 9) disminuyo al aumentar la temperatura de 20-90 °C (106.19 - 11.08 mm²s⁻¹). El valor de viscosidad de los ésteres metílicos de los aceites vegetales disminuye considerablemente después de la transesterificación (Dermibas 2009). La viscosidad del biodiesel es aproximadamente menor en orden de magnitud que la del aceite y depende de la composición de los alquiésteres (Ramos *et al.*, 2009).

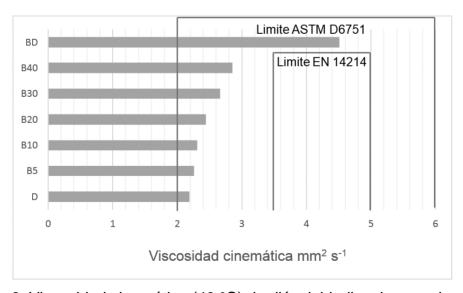


Figura 9. Viscosidad cinemática (40 °C) de diésel, biodiesel y mezclas.

La viscosidad cinemática de biodiesel y las diferentes mezclas cumple con la especificación de la ASTM D 6571-02 (método D445) para biodiesel puro a 40 °C. Además, el biodiesel cumple con la especificación permitida por International Standar (EN 14214 2003, método ISO 3104) a 40 °C. La viscosidad del biodiesel de chinene (4.50 mm²s⁻¹) fue mayor a la reportado por Knothe (2013) para biodiesel de aguacate (4.42 mm²s⁻¹) convertido al 99.5 % y en biodiesel obtenido de semilla de aguacate (*P. gratissima*) con una conversión del 99.4 % (4.95 mm²s⁻¹). El biodiesel puede ser utilizado solo o mezclado en cualquier proporción con petróleo combustible diésel. La mezcla más común es de 20 % de biodiesel con 80 % diésel de petróleo o B20 en las investigaciones científicas recientes.

### Calor de combustión

El aceite obtenido por maceración, el biodiesel y las mezclas preparadas con diésel comercial fueron caracterizados con el poder calorífico (MJKg<sup>-1</sup>) (Figura 10). El aceite de chinene mostró menor calor de combustión que el biodiesel y al aumentar la concentración del biodiesel en las mezclas disminuyó el poder calorífico.

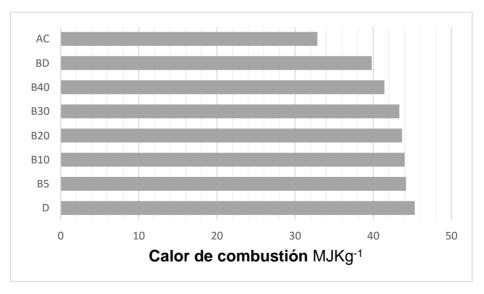


Figura 10. Calor de combustión de aceite, biodiesel y mezclas de biodiesel.

El calor de combustión de los aceites vegetales es superior cuando estos poseen una mayor cantidad de ácidos grasos de cadena larga (Knothe, 2010) e incrementa de acuerdo a la longitud de ésta (Levine *et al.*, 2014). Debido al contenido de oxígeno, los ésteres metílicos de los ácidos grasos presentan menor poder calorífico que el combustible diésel (Mittelbach *et al.*, 2004).

### **5.4 CONCLUSIONES**

El aceite obtenido por maceración de frutos de chinene sobremaduros y con presencia de plaga permitió recuperar el 93.23 % del total de aceites disponibles, el cual presentó formación de ácidos grasos libres (8.36 %) al considerar la calidad del material vegetal empleado y que los aceites procesados con solventes tienden a ser más ácidos. El biodiesel fue obtenido por transesterificación alcalina después del pretratamiento ácido.

La composición de los ésteres metílicos de los ácidos grasos mostró mayor contenido de ácidos grasos insaturados siendo el oleico el principal y de saturados el palmítico. La densidad del aceite y biodiesel cumplen con la especificación permitida por la Norma Mexicana para aceite de aguacate y el Estándar Internacional para biodiesel. La viscosidad cinemática del aceite disminuyó considerablemente después de la transesterificación y la viscosidad del biodiesel cumplió con la especificación permitida por la ASTM D 6571-02 para biodiesel puro. El aceite mostró menor calor de combustión que el biodiesel y al aumentar la concentración del biodiesel en las mezclas disminuyó el valor calorífico. La obtención de biodiesel a partir de frutos sobremaduros y con presencia de plaga es una alternativa para el aprovechamiento de los residuos generados.

### 5.5 REFERENCIAS

Campos-Hernández, N., Cruz-Castillo, J. G., Hernández-Montes, A., & Rubio-Hernández, D. (2011). Aceite de frutos de Persea schiedeana en sobremaduración y cosechados de árboles en estado silvestre. Universidad y Ciencia, 27, 179-189.

Canapi, E. C., Agustin, Y. T. V., Moro, E. A., Pedrosa, E., & Bendaño, M. L. J. (2005). Coconut Oil Bailey's Industrial Oil and Fat Products: John Wiley & Sons, Inc.

Castañeda-Vildózola, A., Del Ángel-Coronel, O. A., Cruz-Castillo, J. G., & Váldez-Carrasco, J. (2009). Persea schiedeana (Lauraceae), nuevo hospedero de Heilipus Iauri Boheman (Coleoptera: Curculionidae) en Veracruz, México. Neotropical Entomology, 38, 871-872.

Cibaria. (2013). Avocado oil. Refined. Retrieved 17-10-2014, 2014, from http://www.cibaria-intl.com/shop/index.php/cibaria-oils-and-organic-oils

Cruz-Castillo, J. G., Ángel-Coronel, O. A., Cruz-Medina, J., & Joaquín-Martínez, M. C. (2007). Carácterísticas Morfológicas y Bioquímicas de Frutos de Chinene. Revista Chapingo. Serie Horticultura, 13(2), 141-147.

Damodaran, S., Parkin, K. L., & Fennema, O. R. (Eds.). (2007). Fennema's food chemistry. CRC press.

Damasceno, S. S., Santos, N. A., Santos, I. M., Souza, A. L., Souza, A. G., & Queiroz, N. (2013). Caffeic and ferulic acids: an investigation of the effect of antioxidants on the stability of soybean biodiesel during storage. Fuel, 107, 641-646.

Del Ángel-Coronel, O. A., Cruz-Castillo, J. G., De La Cruz-Medina, J., & Famiani, F. (2010). Ripening and Physiological Changes in the Fruit of Persea schiedeana Nees during the Postharvest Period. HortScience, 45(1), 172-175.

Demirbas, A. (2009). Biofuels securing the planet's future energy needs. Energy Conversion and Management, 50(9), 2239-2249.

Diamante, L. M., & Lan, T. (2014). Absolute Viscosities of Vegetable Oils at Different Temperatures and Shear Rate Range of 64.5 to 4835 s-1. Journal of Food Processing, 2014, 1-6. doi:10.1155/2014/234583

EN-14214, 2008. Automotive Fuels – Fatty Acid Methyl Esters (FAME) for DieselEngines – Requirements and test methods. Euro Committ for Standardization, Brussels.

Esteban, B., Riba, J.-R., Baquero, G., Rius, A., & Puig, R. (2012). Temperature dependence of density and viscosity of vegetable oils. Biomass and Bioenergy, 42(0), 164-171. doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.biombioe.2012.03.007

Fasina, O. O., & Colley, Z. (2008). Viscosity and Specific Heat of Vegetable Oils as a Function of Temperature: 35°C to 180°C. International Journal of Food Properties, 11(4), 738-746. doi:10.1080/10942910701586273

Guarieiro, L. L. N., de Paula Pereira, P. A., Torres, E. A., da Rocha, G. O., & de Andrade, J. B. (2008). Carbonyl compounds emitted by a diesel engine fuelled

with diesel and biodiesel-diesel blends: sampling optimization and emissions profile. Atmospheric Environment, 42(35), 8211-8218.

Jácome-Rincón, J., Cruz-Castillo, J. G., Guerra-Ramirez, D., Espinoza-Solares, T. (2014). Caracterización fisicoquímica de frutos de Persea schiedeana Nees de la región de Huatusco, Veracruz. Universidad Autónoma Chapingo

Joaquín-Martínez, M. C., Cruz-Castillo, J. G., De la Cruz-Medina, J., & Del Ángel-Coronel, O. A. (2007). Distribución ecogeográfica y características del fruto de Persea schiedeana Nees en los Tuxtlas, Veracruz, México. Revista Fitotecnia Mexicana, 30(4), 403-410.

Jorge, T. D. S., Polachini, T. C., Dias, L. S., Jorge, N., & Telis-Romero, J. (2015). Physicochemical and rheological characterization of avocado oils. . Ciência e Agrotecnologia, 39(4), 390-400.

Keera, S. T., El Sabagh, S. M., & Taman, A. R. (2011). Transesterification of vegetable oil to biodiesel fuel using alkaline catalyst. Fuel, 90(1), 42-47.

Knothe, G. (2006). Analyzing biodiesel: standards and other methods. Journal of the American Oil Chemists' Society, 83(10), 823-833.

Knothe, G. (2010). Biodiesel and renewable diesel: a comparison. Progress in Energy and Combustion Science, 36(3), 364-373.

Knothe, G. (2013). Avocado and olive oil methyl esters. Biomass and Bioenergy, 58, 143-148. doi:10.1016/j.biombioe.2013.09.003

Lai, J. Q., Hu, Z. L., Wang, P. W., & Yang, Z. (2012). Enzymatic production of microalgal biodiesel in ionic liquid [BMIm][PF 6]. Fuel, 95, 329-333.

Levine, F., Kayea Iii, R., Wexler, R., Sadvary, D. J., Melick, C., & La Scala, J. (2014). Heats of Combustion of Fatty Acids and Fatty Acid Esters. Journal of the American Oil Chemists' Society, 91(2), 235-249. doi:10.1007/s11746-013-2367-0

Ma, F., & Hanna, M. A. (1999). Biodiesel production: a review. Bioresource technology, 70(1), 1-15.

Marroquín-Andrade, L., Cuevas-Sánchez, J. A., Guerra-Ramírez, D., Reyes, L., Reyes-Chumacero, A., & Reyes-Trejo, B. (2011). Proximate composition, mineral nutrient and fatty acids of the seed of ilama, Annona diversifolia Saff. Scientific Research and Essays, 6(14), 3089-3093. doi:ISSN 1992-2248

Mazutti, M. A., Voll, F. A., Cardozo-Filho, L., Corazza, M. L., Lanza, M., Priamo, W. L., & Oliveira, J. V. (2013). Thermophysical properties of biodiesel and related systems:(Liquid+ liquid) equilibrium data for soybean biodiesel. The Journal of Chemical Thermodynamics, 58, 83-94.

Mittelbach, M. (2004). Biodiesel. The compherensive handbook (No. L-0577). Martin Mittelbach.

Nielsen, S. (2010). Food Analysis (Fourth Edition ed.). New York, USA.: Springer Science+Business Media.

Pinzi, S., García, I.L., López-Giménez, F.J., Luque de Castro, M.D., Dorado, G., Dorado, M.P., 2009. The ideal vegetable oil-based biodiesel composition: a review ofsocial, economical and technical implications. Energy Fuels 23, 2325–2341.

Przybylski, R., Mag, T., Eskin, N. A. M., & McDonald, B. E. (2005). Canola Oil Bailey's Industrial Oil and Fat Products: John Wiley & Sons, Inc.

Rachimoellah, H. M., Resti, D. A., Zibbeni, A., & Susila, I. W. (2010). Production of biodiesel through transesterification of avocado (Persea gratissima) seed oil using base catalyst. Jurnal Teknik Mesin, 11(2), pp-85.

Ramos, M. J., Fernández, C. M., Casas, A., Rodríguez, L., & Pérez, Á. (2009). Influence of fatty acid composition of raw materials on biodiesel properties. Bioresource technology, 100(1), 261-268.

Reyes-Trejo, B., Guerra-Ramírez, D., Zuleta-Prada, H., Cuevas-Sánchez, J. A., Reyes, L., Reyes-Chumacero, A., & Rodríguez-Salazar, J. A. (2014). Annona diversifolia seed oil as a promising non-edible feedstock for biodiesel production. Industrial Crops and Products, 52, 400-404. doi:10.1016/j.indcrop.2013.11.005

Richard, D., Kefi, K., Barbe, U., Bausero, P., & Visioli, F. (2008). Polyunsaturated fatty acids as antioxidants. Pharmacological Research, 57(6), 451-455. doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.phrs.2008.05.002

Rojas-González, A., & Girón-Gallego, E. (2011). Operation variables in the animal-fat transesterification process: a review. Ingeniería y Universidad, 15(1), 197-218.

Shahidi, F. (2005). Quality Assurance of Fats and Oils Bailey's Industrial Oil and Fat Products: John Wiley & Sons, Inc.

Zhang, J., & Jiang, L. (2008). Acid-catalyzed esterification of Zanthoxylum bungeanum seed oil with high free fatty acids for biodiesel production. Bioresource Technology, 99(18), 8995-8998. doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2008.05.004

Zuleta, E. C., Baena, L., Rios, L. A., & Calderón, J. A. (2012). The oxidative stability of biodiesel and its impact on the deterioration of metallic and polymeric materials: a review. Journal of the Brazilian Chemical Society, 23(12), 2159-2175.

# VI EVALUACIÓN DE LA INHIBICIÓN OXIDATIVA EN ACEITE CON EXTRACTOS ETANÓLICOS DE CÁSCARA DE *Persea schiedeana* Nees

# EVALUATION OF OXIDATIVA INHIBITION IN OIL WITH ETANOLICS EXTRACT OF Persea schiedeana Nees PEEL

#### **RESUMEN**

La oxidación de lípidos es uno de los principales factores resultante en la perdida de la calidad de los alimentos, por la formación de productos con efectos negativos en el sabor, aroma y valor nutricional. El aceite obtenido del mesocarpio de P. schiedeana colectado en Huatusco, Veracruz fue tratado con el extracto etanólico de cáscara del mismo fruto a diferentes concentraciones. con el fin de evaluar la estabilidad oxidativa del aceite sometido a tratamiento térmico. El extracto fue preparado con cáscara de chinene liofilizada y etanol (1 gmL<sup>-1</sup>), a partir del extracto fueron preparados diferentes disoluciones (0.0064, 0.0196, 0.032, 0.048 y 0.1 gmL<sup>-1</sup>). Asimismo, fue preparada una disolución de Butil hidroxitolueno (BHT) a 200 ppm. Los tratamientos fueron aplicados al aceite y sometidos a tratamiento térmico (180 °C, 6 h), asimismo, se aplicaron los mismos tratamientos al aceite sin tratamiento térmico. Finalmente, las muestras de aceite fueron analizadas en un espectrofotómetro de infrarrojo con Transformada de Fourier en la región de infrarrojo de 400 a 4000 cm<sup>-1</sup>. El aceite no sufrió cambios significativos al ser sometido a altas temperaturas durante tiempo prolongado, dado que presentaron bandas características de la composición de los aceites. Las bandas de 3478-3490 y 2992 a 3007 cm<sup>-1</sup> podrían asignarse a enlaces trans y estuvieron presentes en el aceite con y sin tratamiento, por lo que pudieron haberse generado durante la extracción (Soxhlet). El desplazamiento en la región de 1742-1743 cm<sup>-1</sup> en aceite con y sin tratamiento, respectivamente, podría ser asignada a un mínimo de formación de ácidos grasos libres. El aceite no presentó el olor a rancio característico del deterioro, dado que los productos de la oxidación y los procesos autooxidación de los ácidos grasos fueron minimos.

Autor: Anallely López Yerena

Director de Tesis: Dr. Juan Guillermo Cruz Castillo

Tesis de Maestría en Ciencias en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria, Universidad Autónoma Chapingo

Palabras clave: Aceite, estabilidad oxidative, Persea schiedeana.

#### **ABSTRACT**

Lipid oxidation is one of the main factors resulting in the loss of food quality, for the formation of products with negative effects on taste, flavor and nutritional value. The fruits of P. schiedeana were collected in Huatusco, Veracruz in order to evaluate the oxidative stability of oil chinene enriched with the peel of the same fruit and heat treated. The oil was obtained by Soxhlet in constant reflux for 18 h; extracts were prepared with lyophilized peel chinene and pure ethanol at a final concentration of 1 gmL<sup>-1</sup>. From the original extract solutions were prepared at different concentrations (0.0064, 0.0196, 0.032, 0.048 and 0.1 gmL<sup>-1</sup> <sup>1</sup>). He was also prepared a solution of BHT (Butylated hydroxytoluene) at 200 ppm. The oil was enriched with different concentrations of the extract and BHT and was subjected to heat treatment (180 °C, 6 h) also the same treatments were applied in oil without heat treatment, finally oil samples were analyzed in a spectrophotometer in the region of infrared of 400 to 4000 cm<sup>-1</sup>. The oil did not suffer significant changes when subjected to high temperatures for prolonged time, as presented bands characteristic of the composition of the oils. Bands 3478-3490 and 2992-3007 cm<sup>-1</sup> could be allocated to trans bonds and were present in the oil and without treatment, so that could have been generated during extraction (soxhlet). The displacement in the region of 1742-1743 cm<sup>-1</sup> in treated and untreated oil, respectively, may be assigned to at least formation of free fatty acids. The oil does not present the characteristic rancid smell of decay, since the products of oxidation and autoxidation processes fatty acids were minimal.

**Keywords:** oil, oxidative stability, *Persea schiedeana*.

#### 6.1 INTRODUCCIÓN

La oxidación de lípidos es uno de los principales factores resultante en la perdida de la calidad de los alimentos, por la formación de productos con efectos negativos en el sabor, aroma y valor nutricional, los cuales son asociados con muchos daños biológicos en los tejidos vivos que podría incrementar los riesgos de enfermedades cardiovasculares (Ammari *et al.*, 2012). La estabilidad del aceite depende de factores químicos y físicos tales como la luz, la temperatura, el pH, iones metálicos de transición, la composición de los ácidos grasos y el tipo de oxígeno presente (Sørensen *et al.*, 2008).

Los antioxidantes son los principales ingredientes para proteger la calidad de aceites y grasas retardando la oxidación (Wanasundara et al., 1998). Los

antioxidantes existentes se pueden clasificar como naturales o antioxidantes sintéticos. Debido a que los antioxidantes sintéticos, tales como galatos, 2,6-diterbutil metilfenol (BHT), butilhidroxianisol (BHA), y terbutil Hidroquinona (TBHQ), son inestables a temperatura elevada y estrictamente controlados, la preferencia se ha desplazado a la aplicación de antioxidantes naturales (Chen et al., 2016). Los antioxidantes naturales para inhibir la oxidación de aceites comestibles tienen una gran demanda.

P. schiedeana tiene potencial agroindustrial para la producción de aceite comestible, debido a su alto contenido de aceite en pulpa y el buen rendimiento de extracción, alcanzado con una mezcla de hexano e isopropanol (Campos-Hernández et al., 2011). La pulpa de chinene presentó concentraciones importantes de ácidos oleico y palmítico, además de un considerable contenido en fibra (Joaquín-Martínez et al., 2007). Uno de los problemas para preservar productos de la pulpa de aguacate es la oxidación de los ácidos grasos que afectan su vida de anaquel y su valor nutricional (Ariza-Ortega et al., 2014). El procesamiento industrial de los aguacates genera una gran cantidad de subproductos tales como cáscaras y semillas. Estos materiales son ricos en sustancias bioactivas como los polifenoles y las clorofilas que han demostrado tener actividad antioxidante y la supresión radical (Wang et al., 2010 y Rodríguez-Carpena et al., 2011).

El objetivo fue probar el extracto etanólico de cáscara de *Persea schiedeana* como antioxidante natural para evitar la oxidación y formación de isómeros *trans* en el aceite de chinene después de tratamiento térmico.

# **6.2 MATERIALES Y MÉTODOS**

# 6.2.1 Preparación de extracto

Para la preparación del extracto se utilizó la metodología propuesta por Ammari et al. (2012) con algunas modificaciones. Dado que la cáscara de chinene fue la que presentó mayor capacidad antioxidante (ver Capítulo 3) fue utilizada para

evaluar la estabilidad oxidativa de aceite sometido a tratamiento térmico. La cáscara liofilizada y molida (5 g) fue mezclada con etanol (5 mL). Después, la mezcla fue agitada en el vortex durante 5 min a 3000 rpm (Vortéx synergy, WVR International) y sometidos a sonicación por 15 min (Ultrasonic Cleaner 8890, Cole Parmer), inmediatamente fueron colocados en la incubadora por 30 min a 30 °C (Incubadora Orbital Prendo INO-650 M). Las muestras se colocaron en la centrifuga a 1277 g durante 15 min (SOLBAT J-600, México). Todos los sobrenadantes fueron recuperados en un mismo matraz y aforados a 25 mL con el disolvente empleado para la extracción, la concentración inicial del extracto fue de 1 gmL-1. A partir del extracto original fueron preparadas disoluciones a diferentes concentraciones (0.0064, 0.0196, 0.032, 0.048 y 0.1 g mL-1). Asimismo, fue preparada una disolución de BHT (Butil hidroxitolueno) a 200 ppm, con etanol, que es el límite máximo permitido por el diario oficial 2016 para aceites y grasas comestibles (Chen *et al.*, 2016).

# 6.2.2 Capacidad de inhibición del extracto etanólico

El aceite de chinene obtenido por Soxhlet (Capítulo 5) fue utilizado para evaluar el proceso de oxidación y la posible formación de isómeros *trans*. En cada uno de siete tubos de ensayo se colocaron 6 g de aceite y fueron mezclados con 2 mL del extracto con diferentes concentraciones (0, 0.0064, 0.0196, 0.032, 0.048, 0.1 y 1 gmL<sup>-1</sup> y BHT). Los tubos fueron colocados en una parrilla con calentamiento (180 °C, 6 h) utilizando baño de glicerina. Al finalizar el tratamiento térmico las muestras fueron enfriadas rápidamente. Asimismo se aplicaron los mismos tratamientos sin emplear calor, para evaluar si la temperatura y tiempo de exposición a la misma son responsables de la formación de isómeros *trans*. Todos los tratamientos fueron realizados por triplicado.

## 6.2.3 Análisis de aceite por espectroscopía infrarroja

Una alícuota del aceite de todos los tratamientos fue colocada sobre el cristal del espectrofotómetro (IR Cary 630 FTIR modelo G8044AA Agilent technologies, USA). La región de medición fue 400 a 4000 cm<sup>-1</sup>.

# **6.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

## 6.3.1 Análisis de aceite por espectroscopía

El calentamiento de aceites produce varios cambios químicos incluyendo la oxidación. El mecanismo químico de la oxidación térmica es básicamente el mismo que el mecanismo de autooxidación. Los productos de la autooxidación, tal como malondialdehído y otros aldehídos, alcoholes tanto como las cetonas pueden afectar negativamente el sabor de productos alimenticios que contienen ácidos grasos poliinsaturados (Rehman y Salariya, 2006).

Las frecuencias de absorción infrarroja del espectro de aceite de *Persea schiedeana*, así como sus asignaciones se muestran en el Cuadro 11, las cuales estuvieron presentes en la región entre 600 y 3800 cm<sup>-1</sup>, donde se caracterizó estructuralmente la composición del aceite indicando la presencia de sus diferentes grupos funcionales. Los espectros de infrarrojo con Transformada de Fourier fueron iguales en todos los tratamientos.

Diversos investigadores han reportado que en las regiones de 1654, 1743-1750 y 3500-3550 cm<sup>-1</sup> se determina la calidad e identidad de un aceite y grasa, ya que son indicativos de los dobles enlaces *cis*, ácidos grasos libres y oxidación de los ácidos grasos insaturados, respectivamente (Guillen y Cabo 1988, Ariza-Ortega *et al.*, 2010a y Ariza-Ortega *et al.*, 2010b). En la región 3468 cm<sup>-1</sup>, Ariza-Ortega *et al.* (2014) indicaron oxidación de los ácidos grasos insaturados en aceite de aguacate sin tratamiento eléctrico. En aceite de aguacate Hass, Ariza-Ortega *et al.* (2011) encontraron que la región a 3500 cm<sup>-1</sup> está relacionada al grupo funcional carboxilo, por lo tanto, todas sus muestras presentaron oxidación de los ácidos grasos insaturados. Asimismo, en un

estudio realizado por Guillén y Cabo (2000) con aceite de girasol sometido a oxidación a 70 °C con aireación, observaron que a medida que aumenta el grado de oxidación del aceite, la banda cercana a 3471 cm<sup>-1</sup> se ensancha e intensifica, lo cual se debe a la superposición de las bandas originales con nuevas absorciones causadas por los hidroperóxidos generados en el proceso de oxidación. En el aceite de chinene la banda se presentó a 3482 cm<sup>-1</sup> con baja intensidad en el aceite con y sin tratamiento térmico, por lo que el método de extracción pudo haber generado la oxidación del mismo. Santana *et al.* (2015), Knothe (2013) y Antoniassi (2001) demostraron estabilidad oxidativa de aceite de aguacate a 120, 110 y 98-110 °C, respectivamente.

En el espectro de infrarrojo las señales en la región 3010, 3040 y 3050-3060 cm<sup>-1</sup> corresponden a dobles enlaces *trans* (Guillen y Cabo, 1988, Coates, 2006 y Castorena-García *et al.* 2011). En el espectro de IR del aceite de chinene, adicionado con los extractos de la cáscara del fruto, con y sin tratamiento térmico, se observó una señal a 3007 cm<sup>-1</sup>, correspondiente a dobles enlaces con isomería geométrica *trans*. Por lo tanto, se puede inferir que el método de extracción (Soxhlet) generó la formación de isómeros *trans*, dado que ya estaban presentes antes de ser sometidos a tratamiento térmico. El uso de disolventes orgánicos a escala comercial ha sido discutido debido a los problemas de contaminación, asimismo, el efecto de los disolventes sobre la calidad de los ácidos grasos insaturados induce la formación de isómeros *trans* (Ariza-Ortega *et al.*, 2010).

En el espectro IR del aceite de aguacate evaluado por Ariza-Ortega *et al.* (2011) se encontraron señales entre 1743 a 1750 cm<sup>-1</sup> indicativas de la formación de ácidos grasos libres, haciendo una comparación de estos datos con los obtenidos en el espectro IR del aceite de chinene se infiere la presencia de ácidos grasos libres debido al desplazamiento entre 1742 y 1743 cm<sup>-1</sup> en aceite sin y con tratamiento térmico, respectivamente.

Además, en aguacate variedad Fuerte, Ariza-Ortega *et al.* (2010b) encontraron un pico ancho y desplazamiento ligero, hacia la escala del número de onda bajo, debido a la formación de ácidos grasos libres. Yue *et al.* (2008) estudiaron la degradación de los triacilglicéridos en aceite de oliva virgen, y observaron un incremento en la intensidad en esta región 1726-1748 cm<sup>-1</sup> por la formación de éstos compuestos.

Cuadro 11. Frecuencias y asignación para el espectro FTIR del aceite de *P. schiedeana*.

Asignación	Literatura	Chinene
-C=O (éster) estiramiento	3500 <sup>1</sup>	3482
-HC=CH- (trans) estiramiento	3040 <sup>1</sup>	
-HC=CH- (trans) estiramiento	3025 <sup>1</sup>	
Simétrico =C-H extensión enlace olefínico	3006 <sup>1</sup> -3007 <sup>2</sup>	3007
Asimétrico CH <sub>3</sub> extensión	2957 <sup>2</sup>	
Asimétrico CH <sub>2</sub> extensión	2992 <sup>2</sup>	
Asimétrico C-H extensión alifático		2921
Simétrico CH <sub>3</sub> extensión	2873 <sup>2</sup>	
Simétrico C-H extensión alifático	2855 <sup>2</sup>	2852
Ester carbonilo C=O extensión	1774 <sup>2</sup> -1746 <sup>1</sup>	1743
Insaturación C=C extensión	1651 <sup>2</sup>	
-HC=CH- (cis)	1642 <sup>1</sup>	
Asimétrico C-H flexión	1460 <sup>2</sup>	1460
Simétrico CH <sub>3</sub> flexión	1418 <sup>2</sup>	
Simétrico CH₃ flexión	1377 <sup>2</sup>	1376
C-O extensión	1234 <sup>2</sup>	
C-O extensión, CH <sub>2</sub> en el plano flexión	1159 <sup>2</sup>	1159
C-O extensión	1117 <sup>2</sup>	1105-1106
C-O extensión	1095 <sup>2</sup>	1091
-HC=CH- (trans)	968¹	
Flexión plana =C-H (cis)	723 <sup>1</sup>	721-722

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup>Ariza-Ortega et al. (2011) <sup>2</sup>Castorena-García et al. (2011).

De acuerdo con Guillen y Cabo (1988); Coates (2006) y Ariza-Ortega *et al.* (2010), la señal en la región de 1654 cm<sup>-1</sup> corresponde a los dobles enlaces *cis*, dicha señal no fue detectada en las muestras del aceite de chinene en todos los tratamientos. Asimismo, el aceite de aguacate evaluado por Castorena-García *et al.* (2011) presentó la banda a 1651 cm<sup>-1</sup> asociada a la extensión C=C, y utilizada para determinar el grado de insaturación de los aceites. La banda localizada en la región a 1460 cm<sup>-1</sup> se atribuye a la flexión asimétrica de C-H, mientras que las flexiones simétricas del metilo dan como resultado las bandas en 1418 y 1377 cm<sup>-1</sup>. Las bandas localizadas en 1234, 1159, 1117 y 1095 cm<sup>-1</sup> se atribuyen a la extensión C–O del grupo éster presente en la molécula de los triglicéridos.

Un incremento en la temperatura de almacenamiento tiene mayor impacto sobre el aceite de aguacate que en aceite de coco. Por lo tanto, el uso de compuestos fenólicos como antioxidantes podría proporcionar beneficios duales mediante el aumento tanto de la estabilidad y el valor nutricional final del aceite (Sun-Waterhouse *et al.*, 2011).

En aceite de oliva extra virgen enriquecido con extractos de *Mirto*, fue demostrado mayor inhibición oxidativa por Dairi *et al.* (2015) debido a la capacidad de protección a los ácidos grasos poliinsaturados, donde la incorporación de estos extractos puede beneficiar a los aceites en la mejora de sus compuestos antioxidantes y su estabilidad oxidativa. La incorporación de extractos con hojas de olivo en aceites comestibles puede contribuir al incremento de la capacidad de atrapamiento de radicales libres y la estabilidad oxidativa de los aceites (Salta *et al.*, 2007).

La estabilidad frente a la oxidación de aceites depende no sólo del grado de insaturación sino también de la cantidad de antioxidantes presentes en la fracción insaponificable (Berasategi et al., 2012). La alta tasa de oxidación de PUFA puede ser controlado por la adición de antioxidantes producidos sintéticamente tal como butilhidroxitolueno (BHT), butilhidroxianisol (BHA),

Terbutil Hidroquinona (TBHQ) o de fuentes naturales como α- tocoferol. Sin embargo, las propiedades del potencial carcinogénico de los antioxidantes sintéticos han sido reportados y su uso en alimentos ha sido ya limitado en algunos países (Rupasinghe *et al.*, 2010).

#### **6.4 CONCLUSIONES**

El aceite obtenido por Soxhlet se isomerizó durante el proceso de extracción, por lo que no se observaron cambios cuando se adicionó el extracto de cáscara de chinene como antioxidante. Sin embargo, en el aceite sometido a tratamiento térmico no se detectó la presencia del olor a rancio característico del deterioro, dado que los productos de la oxidación (hidroperóxidos) y los procesos de autooxidación de los ácidos grasos fueron mínimos, por lo tanto, se puede concluir que el aceite de chinene es estable a los procesos de hidroperoxidación.

#### **6.5 REFERENCIAS**

Ammari, F., Cordella, C. B. Y., Boughanmi, N., & Rutledge, D. N. (2012). Independent components analysis applied to 3D-front-face fluorescence spectra of edible oils to study the antioxidant effect of Nigella sativa L. extract on the thermal stability of heated oils. Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems, 113, 32-42. doi:10.1016/j.chemolab.2011.06.005

Antoniassi, R. (2001). Métodos de avaliação da estabilidade oxidativa de óleos e gorduras. B. Ceppa., 19, 354–380.

Ariza-Ortega J. A.; Díaz-Reyes J.; Méndez-Ramos M. G.; Delgado-Macuil R. J.; Robles-de-la-Torre R. R. 2010a. Analysis spectroscopic by Fourier transform infrared of butter made from vegetable oil and pure cow milk subjected at thermo-oxidation processes. Journal of Materials Science and Engineering. 4(6): 37-40.

Ariza-Ortega J. A.; Díaz-Reyes J.; Delgado-Macuil R. J.; Robles-de-la-Torre, R. R. 2010b. Fourier transform infrared spectroscopy of the avocado oils varieties hass, criollo and fuerte. Journal of Materials Science and Engineering. 4(5): 66-69.

Ariza-Ortega, J. A., Delgado-Macuil, R. J., Robles-de-la-Torre, R. R., López-Valdés, F., Coyotl-Huerta, J., Ramos-Cassellis, M. E., & Soriano-Morales, A. (2011). Efecto del campo eléctrico sobre el aceite de aguacate almacenado a varios tiempos. Ingeniería Agrícola y Biosistemas, 3(2), 67-73. doi: doi: 10.5154/r.inagbi.2011.11.005

Ariza-Ortega, J. A., Ramírez-Moreno, E., Ramos-Cassellis, M. E., & Diaz-Reyes, J. (2014). Conservación del aceite de aguacate con campo eléctrico. Revista mexicana de ingeniería química, 13(3), 705-711.

Berasategi, I., Barriuso, B., Ansorena, D., & Astiasaran, I. (2012). Stability of avocado oil during heating: comparative study to olive oil. Food Chem, 132(1), 439-446. doi:10.1016/j.foodchem.2011.11.018

Campos-Hernández, N., Cruz-Castillo, J. G., Hernández-Montes, A., & Rubio-Hernández, D. (2011). Aceite de frutos de Persea schiedeana en sobremaduración y cosechados de árboles en estado silvestre. Universidad y Ciencia, 27, 179-189.

Castorena, J. G., López, M. R., Macuil, R. D., & de la Torre, R. R. (2011). Análisis de Pulpa y Aceite de Aguacate con Espectroscopia Infrarroja. Conciencia Tecnológica, 42, 5-10

Chen, H., Qiu, S., Gan, J., Li, Z., Nirasawa, S., & Yin, L. (2016). New insights into the antioxidant activity and components in crude oat oil and soybean oil. J Food Sci Technol, 53(1), 808-815. doi:10.1007/s13197-015-1991-0

Coates, J. (2006). Interpretation of Infrared Spectra, A Practical Approach Encyclopedia of Analytical Chemistry: John Wiley & Sons, Ltd.

Dairi, S., Galeano-Díaz, T., Acedo-Valenzuela, M. I., Godoy-Caballero, M. P., Dahmoune, F., Remini, H., & Madani, K. (2015). Monitoring oxidative stability and phenolic compounds composition of myrtle-enriched extra virgin olive during heating treatment by flame, oven and microwave using reversed phase dispersive liquid–liquid microextraction (RP-DLLME)-HPLC-DAD-FLD method. Industrial Crops and Products, 65, 303-314.

Guillén, M. D., & Cabo, N. (1998). Relationships between the composition of edible oils and lard and the ratio of the absorbance of specific bands of their Fourier transform infrared spectra. Role of some bands of the fingerprint region. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 46(5), 1788-1793.

Joaquín Martínez, M. C. C. C., Juan Guillermo; De La Cruz Medina, Javier; Ángel, & Coronel, Ó. d. (2007). Distribución ecogeográfica y características del fruto de persea schiedeana nees. en los Tuxtlas, Veracruz, México. Revista Fitotecnia Mexicana, Vol. 30 (4), 403 – 410.

Knothe, G. (2013). Avocado and olive oil methyl esters. Biomass and Bioenergy, 58, 143-148. doi:10.1016/j.biombioe.2013.09.003

Rehman, Z., & Salariya, A. (2006). Effect of synthetic antioxidants on storage stability of Khoa – a semi-solid concentrated milk product. Food Chemistry, 96(1), 122-125. doi:10.1016/j.foodchem.2005.02.016

Rodriguez-Carpena, J. G., Morcuende, D., Andrade, M. J., Kylli, P., & Estevez, M. (2011). Avocado (Persea americana Mill.) phenolics, in vitro antioxidant and antimicrobial activities, and inhibition of lipid and protein oxidation in porcine patties. J Agric Food Chem, 59(10), 5625-5635. doi:10.1021/jf1048832

Rupasinghe, H. P., Erkan, N., & Yasmin, A. (2010). Antioxidant protection of eicosapentaenoic acid and fish oil oxidation by polyphenolic-enriched apple skin extract. J Agric Food Chem, 58(2), 1233-1239. doi:10.1021/jf903162k

Santana, I., dos Reis, L. M., Torres, A. G., Cabral, L., & Freitas, S. P. (2015). Avocado (Persea americana Mill.) oil produced by microwave drying and expeller pressing exhibits low acidity and high oxidative stability. European Journal of Lipid Science and Technology, 117(7), 999-1007.

Salta, F. N., Mylona, A., Chiou, A., Boskou, G., & Andrikopoulos, N. K. (2007). Oxidative stability of edible vegetable oils enriched in polyphenols with olive leaf extract. Food Science and Technology International, 13(6), 413-421.

Sørensen, A. D. M., Haahr, A. M., Becker, E. M., Skibsted, L. H., Bergenståhl, B., Nilsson, L., & Jacobsen, C. (2008). Interactions between iron, phenolic compounds, emulsifiers, and pH in omega-3-enriched oil-in-water emulsions. Journal of agricultural and food chemistry, 56(5), 1740-1750.

Sun-Waterhouse, D., Thakorlal, J., & Zhou, J. (2011). Effects of added phenolics on the storage stability of avocado and coconut oils. International Journal of Food Science & Technology, 46(8), 1575-1585. doi:10.1111/j.1365-2621.2011.02655.x

Wanasundara, U. N., & Shahidi, F. (1998). Antioxidant and pro-oxidant activity of green tea extracts in marine oils. Food Chemistry, 63(3), 335-342.

Wang, W., Bostic, T. R., & Gu, L. (2010). Antioxidant capacities, procyanidins and pigments in avocados of different strains and cultivars. Food Chemistry, 122(4), 1193-1198. doi:10.1016/j.foodchem.2010.03.114

Yue L.; García-González D. L.; Xiuzhu Y.; van de Voort F. R. 2008. Determination of Free Fatty Acids in Edible Oils with the use of a variable filter array IR Spectrometer. Juornal of the American Oil Chemists' Society 85: 599-604. DOI: 10.1007/s11746-008-1232-z.

#### **CONCLUSIONES GENERALES**

En la caracterización de las propiedades nutricionales de los frutos de todas las accesiones de *P. schiedeana* la humedad y el extracto etéreo fueron los principales componentes. La cáscara de chinene es una fuente natural de fenoles con potencial antioxidante que podría ser empleado como base en ingredientes de alimentos funcionales o como aditivos antioxidantes dado que presentó las mejores propiedades nutracéuticas.

El mayor rendimiento de extracción por centrifugado se obtuvo con frutos lxp utilizando CaCO<sub>3</sub> al 5%. El aceite se caracterizó por ser de color verde traslúcido y con precipitación blanca en todos los tratamientos. El principal ácido graso insaturado en el aceite fue el oleico al cual se le confieren efectos benéficos a la salud humana.

La determinación de la utilidad de frutos de *P. schiedeana* (sobremaduros, deshidratados y con presencia de plaga) como fuente potencial para ser transformado en biodiesel por transesterificación alcalina, permitió identificar la disminución de la viscosidad cinemática después de la transesterificación y el cumplimiento de la especificación permitida para biodiesel puro.

Los frutos lxp presentaron mayor cantidad de aceites totales. Además se comprobó por FTIR que el aceite se isomerizó durante el proceso de extracción, por lo que no se observaron cambios cuando se adicionó el extracto de cáscara de chinene como antioxidante. En el aceite sometido a tratamiento térmico no se detectó la presencia del olor a rancio característico del deterioro, por lo tanto, se puede concluir que el aceite de chinene es estable a los procesos de hidroperoxidación.