



APROVECHAMIENTO DE LA SEMILLA DE AGUACATE
VARIEDAD LORENA COMO UN COLORANTE NATURAL
Y DEL ACEITE DE MESOCARPIOS RESIDUALES DE LA
VARIEDAD HASS COMO COMPONENTES
FUNCIONALES EN UN JABÓN LÍQUIDO

LICELANDER HENNESSEY RAMOS

Universidad de Manizales
Facultad de Ciencias Contables Económicas y
Administrativas
Maestría en Desarrollo Sostenible y Medio Ambiente
Manizales, Colombia
2017

APROVECHAMIENTO DE LA SEMILLA DE AGUACATE
VARIEDAD LORENA COMO UN COLORANTE NATURAL
Y DEL ACEITE DE MESOCARPIOS RESIDUALES DE LA
VARIEDAD HASS COMO COMPONENTES
FUNCIONALES EN UN JABON LÍQUIDO

LICELANDER HENNESSEY RAMOS

Tesis o trabajo de investigación presentada(o) como requisito parcial para optar al título
de:

Magister en Desarrollo Sostenible y Medio Ambiente

Director (a):

Doctor, Walter Murillo Arango

Línea de Investigación:

BIOSISTEMAS INTEGRADOS

Universidad de Manizales

Facultad de Ciencias Contables Económicas y Administrativas

Maestría en Desarrollo Sostenible y Medio Ambiente

Manizales, Colombia

2017

IV APROVECHAMIENTO DE LA SEMILLA DE AGUACATE VARIEDAD LORENA
COMO UN COLORANTE NATURAL Y DEL ACEITE DE MESOCARPIOS
RESIDUALES DE LA VARIEDAD HASS COMO COMPONENTES
FUNCIONALES EN UN JABON LÍQUIDO

A Soledad Barrios y Orencio O'haonghusa por ser el origen de todo

Más allá de la globalización capitalista “hay otros mundos posibles” si los tejemos desde abajo, por la izquierda y con la tierra.

Arturo Escobar

Agradecimientos

A la Universidad de Manizales por abrir sus puertas y poder culminar mi estudio de Maestría, al Doctor Jhon Fredy Betancur P, Director de la línea de investigación en Biosistemas Integrados (BSI) - CIMAD

Al Servicio Nacional de Aprendizaje (SENA), especialmente al Centro Agropecuario La Granja, sede Espinal y su red de Tecnoparque, por facilitar los espacios para la realización de esta investigación.

A la Universidad del Tolima, especialmente al grupo de investigación GIPRONUT por su apoyo en la realización de los análisis cromatográficos.

Al Dr., Walter Murillo Arango, Docente CIMAD Universidad de Manizales, por ser el guía en todo el proceso de esta investigación, a la Ingeniera Doris Ramos, a mi padre Eduardo Hennessey, a la Ingeniera Katherine Andrade, a la Administradora Aris Danessa, al Ingeniero Milver A. Chala y Giovanni Tovar por su generosidad y sus conocimientos aportados.

Resumen

El presente trabajo exploró dos alternativas para el aprovechamiento de residuos generados por semilla de *Persea Americana Mill Variedad Lorena*, la primera, mediante la obtención de extractos acuosos tipo colorante de Agua, Solución acuosa de NaOH al 0.5% y mezcla de 50% Agua y 50% Alcohol etílico manteniendo constante la relación de 0,05 semilla-solvente, los cuales fueron evaluados en cuanto a su rendimiento expresado en sólidos totales, actividad antioxidante por DPPH y potencial antimicrobiano frente a *Staphilococos aereus* y *Escherichia coli* por el método de difusión en disco. La segunda alternativa es la obtención de aceite de aguacate de pulpa proveniente de aguacate no aptos para comercialización de *Persea Americana* variedad Hass a dicho aceite se le evaluó las propiedades fisicoquímicas pertinentes, índice de acidez, índice de yodo, índice de saponificación, perfil cromatográfico. Se aplicó en una matriz tipo jabón líquido el colorante extraído de la semilla y el aceite proveniente de la pulpa, se evaluó el color del jabón en coordenadas CIELab y el pH, durante 30 días de almacenamiento. Además se evaluó la formulación de jabón líquido frente a la normativa vigente establecida en la NTC 709 para Colombia.

La extracción más eficiente fue mediante hidróxido de sodio expresada en % de sólidos totales extraídos de la semilla de aguacate con un promedio de $1,61 \pm 0,02$. La actividad antioxidante del extractos con agua destilada es la más alta entre los tratamientos. No se presentó ninguna actividad antimicrobiana en los extractos evaluados. El índice de yodo revela que el aceite obtenido tiene un alto grado de insaturaciones y el índice de saponificación es más alto frente a los reportados lo que indica que tiene altas oportunidad la industria de jabones y cosméticos. El colorante extraído con NaOH a partir de la semilla de aguacate variedad Lorena, es completamente estable en una matriz de jabón líquido con un pH de 6,2 durante un mes de almacenamiento. Con los ingredientes formulados para el jabón líquido no se logra el cumplimiento de la NTC 709, sin embargo puede existir una confusión con el etiquetado en cuanto a la denominación “jabón líquido” que realizan las empresas productoras que ofrecen este tipo de producto en Colombia

X APROVECHAMIENTO DE LA SEMILLA DE AGUACATE VARIEDAD LORENA
COMO UN COLORANTE NATURAL Y DEL ACEITE DE MESOCARPIOS
RESIDUALES DE LA VARIEDAD HASS COMO COMPONENTES
FUNCIONALES EN UN JABON LÍQUIDO

Palabras clave: aguacate, colorante natural, pérdidas de alimentos, aceite de aguacate, jabón líquido.

Abstract

The present work explored two alternatives for the use of the residues generated by *Persea Americana* Mill Variety Lorena seed, the first one by obtaining aqueous extracts type of Water color, 0.5% NaOH aqueous solution and 50% water mixture and 50 % Ethyl alcohol maintaining constant 0.05 seed-solvent ratio, which were evaluated for their yield expressed in total solids, antioxidant activity by DPPH and antimicrobial potential against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* by the diffusion method on disk . The second alternative is the obtaining of avocado oil from avocado pulp not suitable for commercialization of *Persea American Hass* variety to said oil was evaluated the relevant physicochemical properties, acidity index, iodine index, saponification index, chromatographic profile. The dye extracted from the seed and the oil from the pulp was applied in a liquid soap-type matrix, the color of the soap in CIELab coordinates and the pH was evaluated during 30 days of storage. In addition, the liquid soap formulation was evaluated against the current regulations established in NTC 709 for Colombia.

The most efficient extraction was by sodium hydroxide expressed as% of total solids extracted from avocado seed with an average of 1.61 ± 0.02 . The antioxidant activity of the extracts with distilled water is the highest among the treatments. No antimicrobial activity was present in the extracts evaluated. The iodine index reveals that the oil obtained has a high degree of unsaturation and the saponification index is higher than those reported indicating that the soap and cosmetics industry has a high opportunity. The NaOH-extracted dye from the Lorena variety avocado seed is completely stable in a liquid soap matrix with a pH of 6.2 for one month of storage. With the ingredients formulated for the liquid soap does not achieve the fulfillment of the NTC 709, however can be a confusion with the labeling as far as the denomination "liquid soap" that realize the producing companies that offer this type of product in Colombia

Key words: avocado, natural coloring, food losses, avocado oil, liquid soap

Contenido

| | | |
|-----------------------|---|-----|
| Pág. | | |
| Resumen..... | | IX |
| Lista de figuras..... | | XV |
| Lista de tablas..... | | XVI |
| Introducción..... | | 17 |
| Objetivos..... | | 19 |
| 1 | CAPÍTULO 1: ASPECTOS GENERALES SOBRE LA DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA..... | 20 |
| 1.1 | Planteamiento del problema..... | 20 |
| 1.2 | Justificación..... | 23 |
| 1.3 | Marco teórico..... | 25 |
| 1.3.1 | Producción de aguacate..... | 25 |
| 1.3.2 | Propiedades y usos de los residuos del aguacate..... | 32 |
| 1.3.3 | Obtención de Colorantes Naturales..... | 34 |
| 1.3.4 | Evaluación de la Actividad antioxidante..... | 35 |
| 1.3.5 | Evaluación de la Actividad antimicrobiana..... | 36 |
| 1.3.6 | Evaluación del color..... | 37 |
| 1.3.7 | Generalidades del aceite de aguacate y extracción por método Soxhlet..... | 39 |
| 1.3.8 | Índices de calidad en aceites..... | 40 |
| 1.3.9 | Generalidades y formulación del Jabón líquido..... | 43 |
| 1.4 | Metodología..... | 44 |
| 1.4.1 | Extracción de colorantes y evaluación de rendimientos..... | 44 |
| 1.4.2 | Evaluación de la actividad antioxidante..... | 45 |
| 1.4.3 | Evaluación de la actividad antimicrobiana..... | 46 |
| 1.4.4 | Evaluación del color..... | 47 |
| 1.4.5 | Extracción de aceite de aguacate por método Soxhlet..... | 47 |
| 1.4.6 | Determinación de parámetros de calidad de aceite de aguacate..... | 49 |
| 1.4.7 | Formulación jabón líquido y evaluación de su estabilidad..... | 50 |
| 1.4.8 | Evaluación de la formulación de jabón líquido según normatividad vigente..... | 50 |
| 2 | CAPÍTULO 2: RENDIMIENTOS DE EXTRACCIÓN, PROPIEDADES ANTIOXIDANTES Y ANTIMICROBIANAS DE EXTRACTOS DE DIFERENTE POLARIDAD OBTENIDOS A PARTIR DE LA SEMILLA DE AGUACATE (PERSEA AMERICANA MILL VARIEDAD LORENA)..... | 52 |
| 2.1 | Resultados y discusión..... | 52 |
| 2.1.1 | Rendimientos de extracción..... | 52 |
| 2.1.2 | Actividad antioxidante..... | 53 |
| 2.1.3 | Actividad antimicrobiana..... | 55 |
| 3 | CAPÍTULO 3: PROPIEDADES FÍSICOQUÍMICAS Y PERFIL CROMATOGRÁFICO DEL ACEITE DE AGUACATE VARIEDAD HASS..... | 58 |
| 3.1 | Resultados y discusión..... | 58 |
| 3.1.1 | Características físicoquímicas del aceite de aguacate..... | 58 |
| 3.1.2 | Determinación del perfil cromatográfico de ácidos grasos..... | 60 |

| | | |
|-------|--|----|
| 4 | . CAPÍTULO 4: EVALUACIÓN DEL COLOR, pH Y DE LOS PRINCIPALES PARÁMETROS ESTABLECIDOS POR LA NORMATIVA VIGENTE NTC 709 EN LA MATRIZ TIPO JABÓN LÍQUIDO | 63 |
| 4.1 | Resultados y discusión | 63 |
| 4.1.1 | Evaluación del color y pH en el jabón líquido | 63 |
| 4.1.2 | Evaluación del jabón líquido frente a la NTC 709 | 65 |
| 5 | . CONCLUSIONES | 68 |
| 6 | . RECOMENDACIONES..... | 70 |
| | Anexos | 71 |
| | Bibliografía | 82 |

Lista de figuras

| | |
|--|----|
| Figura 1-1. Posibles aprovechamientos a partir de residuos agroindustriales..... | 21 |
| Figura 1-2. Área cosechada y de producción de Aguacates en Colombia | 27 |
| Figura 1-3. Espacio de color CIELab L*, a*, b* | 37 |
| Figura 1-4. Montaje para la extracción con Soxhlet en el momento que se produce el sifonamiento del solvente..... | 40 |
| Figura 1-5 Colorímetro Konica Minolta Cr- 5 | 47 |
| Figura 1-6 Aguacate variedad Hass no aptos para comercialización | 48 |
| Figura 2-2 Comparación de diferentes extractos de semilla de aguacate (Persea Americana Variedad Lorena), por el método decoloración del radical DPPH• | 54 |
| Figura 2-3 Cepas en sus respectivos medios de cultivo, agar EMB, para <i>E. coli</i> (figura derecha) y agar Baird Parker para <i>Saphylococcus aureus</i> (figura izquierda)..... | 55 |
| Figura 2-4 Ensayo biológico de diferentes extractos de semilla de aguacate frente a <i>Staphylococcus aureus subsp</i> ATCC 29213..... | 56 |
| Figura 2-5 Ensayo biológico de diferentes extractos de semilla de aguacate frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 | 56 |
| Figura 4-1 Muestras de jabón líquido con el colorante de la semilla de aguacate | 65 |

Lista de tablas

| | |
|---|----|
| Tabla 1-1. Toneladas de aguacate en producidas en Colombia | 25 |
| Tabla 1-2. Materiales de aguacate para procesamiento agroindustrial | 27 |
| Tabla 1-3. Empresas transformadoras de pulpas de aguacate y guacamoles en Colombia..... | 28 |
| Tabla 1-4: Empresas productoras y comercializadoras de aceite de aguacate en Colombia..... | 31 |
| Tabla 1-5 Investigaciones realizada sobre la actividad biológica de la semilla de aguacate | 32 |
| Tabla 1-6. Perfil cromatográfico del aceite de aguacate variedad Hass..... | 39 |
| Tabla 1-7 Características fisicoquímicas del aceite de aguacate variedad Hass extraído con tratamiento enzimático | 42 |
| Tabla 1-8 Requisitos establecidos por la NTC 709 para la aceptación del jabón líquido. 43 | |
| Tabla 1-9 Métodos de determinación de parámetros para evaluar la calidad de aceites. 49 | |
| Tabla 1-10 Formulaciones de jabones líquidos | 50 |
| Tabla 1-11 Ensayos requeridos para determinación de parámetros en jabón líquido según NTC 709..... | 51 |
| Tabla 2-1 Gamas de color obtenido con diferentes solventes a partir de semilla de aguacate. | 53 |
| Tabla 3-1 Resultados de las características fisicoquímicas de diferentes tipos de aceite | 58 |
| Tabla 3-2 Resultados del perfil cromatográfico del aceite de aguacate Hass | 60 |
| Tabla 4-1 Evaluación del color y pH en el jabón líquido durante 30 días | 63 |
| Tabla 4-2 Comparación de los requisitos establecidos por la NTC 709 frente a los jabones diseñados en este estudio..... | 65 |

Introducción

El siguiente trabajo de tesis se construye en la Línea de Biosistemas Integrados de la maestría en desarrollos sostenible y medio ambiente de la Universidad de Manizales y consiste en brindar alternativas al uso de los residuos generados en el procesamiento de aguacate, en cuanto a semilla y mesocarpio o pulpa.

La gran cantidad de residuos producidos por la industria alimentaria, además de ser una gran pérdida de materiales valiosos, también plantea graves problemas de gestión, tanto desde el punto de vista económico como ambiental. Sin embargo, muchos de estos residuos tienen el potencial de ser reutilizados en otros sistemas de producción, como un sistema de Bio-refinerías. (Mirabella, Castellani, & Sala, 2014)

Departamentos como Tolima, Antioquia, Caldas, Bolívar y Santander han incrementado la producción de aguacate en los últimos años, sin embargo este crecimiento genera una considerable cantidad de pérdidas principalmente en las etapas de poscosecha, procesamiento y comercialización en fresco, por lo que se debe contar con alternativas viables para el aprovechamiento de los residuos generados que en lo posible fortalezca o aumente las economías locales y paralelamente ayuden a realizar una gestión sostenible de los residuos.

La cadena agroindustrial del aguacate genera residuos con un gran potencial de aprovechamiento, las semillas por su capacidad colorante y los mesocarpios no aptos para comercialización que contienen un alto contenido de ácidos grasos insaturados, estos coproductos tienen un alto valor biológico los cuales pueden ser usados para la creación de nuevos productos. En este orden de ideas la presente investigación buscó brindar alternativas al uso de los residuos generados en el procesamiento de aguacate, en cuanto a semilla y mesocarpio o pulpa, incorporándolos en una matriz tipo jabón

líquido con el fin de que estas pérdidas sean usadas como componentes para el diseño de nuevos productos o aplicaciones.

La investigación consta de cuatro acápite: el primero hace referencia a la Descripción del problema, por lo cual se tiene en cuenta la Justificación, Marco Teórico, Objetivos y la Metodología.

En el segundo capítulo se muestra el estudio correspondiente las propiedades antioxidantes y antimicrobianas; Analizando diferentes tipos de solventes frente al comportamiento de dichas propiedades. Además se evaluó los rendimientos de los extractos de semilla de aguacate.

El tercer capítulo se muestra lo relacionado a la extracción del aceite de aguacate a través del método soxhlet y la evaluación de las propiedades fisicoquímicas del aceite con su respectivo perfil cromatográfico.

El cuarto capítulo hace referencia a la evaluación del color y pH de la matriz tipo jabón líquido a la cual se le incorporó el colorante de la semilla de aguacate para reemplazar el uso de colorantes sintéticos y la adición de aceite de aguacate para realzar las propiedades humectantes.

Objetivos

Objetivo General

Evaluar la capacidad antioxidante, antimicrobiana y colorante *in vitro*, de extractos de diferente polaridad obtenidos a partir de la semilla de aguacate (*Persea americana* Mill variedad Lorena) y aprovechamiento del aceite de aguacate Hass para uso en una formulación tipo jabón líquido.

Objetivos Específicos

Evaluar la eficiencia de diferentes solventes orgánicos y agua, en el rendimiento de extracción de la semilla de aguacate (*Persea americana* Mill variedad Lorena)

Evaluar la actividad antimicrobiana de los extractos (frente a una cepa de *Staphylococcus aureus* subsp ATCC 29213 y *Escherichia coli* ATCC 25922.) y la capacidad antioxidante del formulado bajo condiciones *in vitro*

Evaluar las características fisicoquímicas y composición de los ácidos grasos del aceite de aguacate Hass proveniente de frutos no aptos para comercialización

Analizar la formulación del jabón líquido de acuerdo a la Norma Técnica Colombiana NTC 709 y la estabilidad del color frente a condiciones de temperatura, pH y Luz, y determinar las condiciones para su uso

1 CAPÍTULO 1: ASPECTOS GENERALES SOBRE LA DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA

1.1 Planteamiento del problema

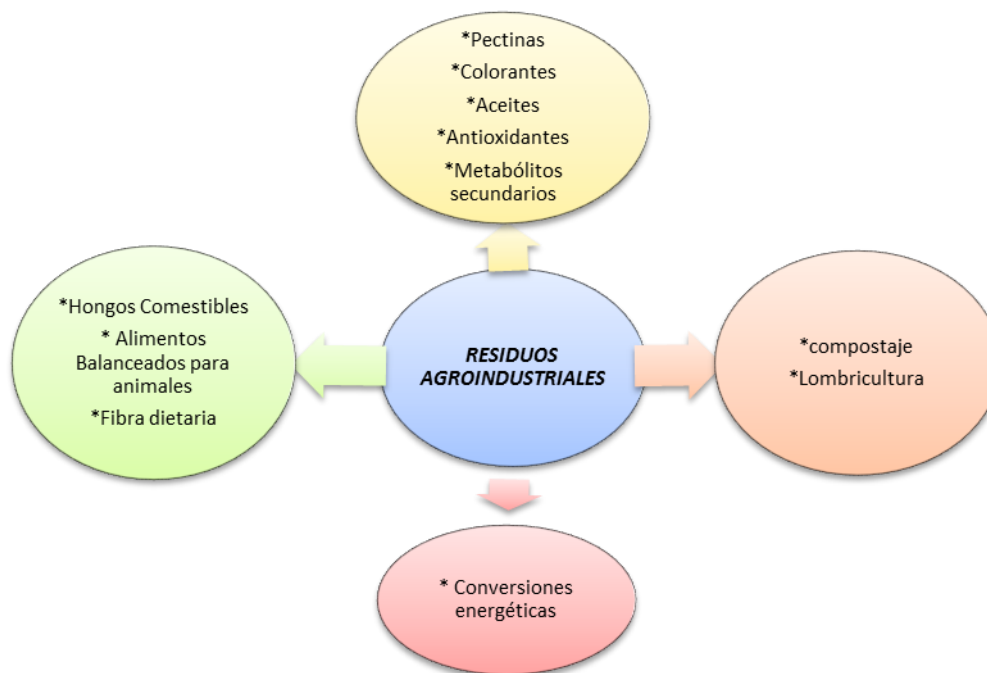
Durante algunos procesos agroindustriales se generan subproductos o residuos y si ellos no son reciclados o procesados apropiadamente, generan diversos problemas ambientales. Algunos son quemados o vertidos en rellenos sanitarios produciendo una gran liberación de dióxido de carbono, contaminación de cursos de aguas, molestias por presencia de olores, proliferación de ratas, moscas y otros insectos, etc. (Barragán, Téllez, & Laguna, 2008). El problema al que se enfrentan los residuos agroindustriales es que no existe una clara conciencia ambiental para su manejo, además de que falta capacidad tecnológica y recursos económicos para darles un destino final. (Saval, 2012).

La inadecuada gestión de residuos sólidos en Colombia en el sector alimenticio, es un asunto de orden nacional que requiere con urgencia aunar esfuerzos en procura de construir mecanismos que permitan enfrentar efectivamente la crisis que presentan algunas industrias del país en cuanto al manejo integral de sus residuos sólidos, haciendo énfasis en la disposición final, y sobre todo en el aprovechamiento de estos desde el punto de vista económico y ambiental de no afectación de los ecosistemas. (Causado & Reatiga, 2013)

El crecimiento de la agroindustria en Colombia ha conducido a grandes problemas y preguntas sobre el qué hacer con la inmensidad de residuos que genera este eslabón de la economía, aunque existe un gran abanico de posibilidades para el aprovechamiento de los residuos pueden ser usados de distintas maneras: Como fuentes para la extracción de antioxidantes, antimicrobianos, aromatizantes, colorantes y aditivos texturizantes (Ayala-Zavala et al., 2011), además se pueden encontrar compuestos bioactivos, fenoles, carotenoides, vitaminas y fibras. (Mirabella et al., 2014) y dependiendo de la materia prima y del proceso que los generó también se puede hallar significativos contenidos de celulosa, lignina, hemicelulosa y pectina (Saval, 2012)

A continuación se presentan algunas alternativas de aprovechamiento para los residuos agroindustriales los cuales generalmente están constituidos por semillas, cáscaras, hojas, frutas y hortalizas no aptas para comercialización.

Figura 1-1. Posibles aprovechamientos a partir de residuos agroindustriales



Fuente: El autor.

En la actualidad existe una demanda considerable de colorantes naturales alternativos a los colorantes sintéticos, debido a su toxicidad en alimentos, cosméticos y productos farmacéuticos. (Garzón, 2008). La producción de colorantes naturales es una alternativa interesante para el aprovechamiento de residuos que presenten características de esta índole, sin embargo las principales limitaciones de la mayor parte de estos pigmentos para aplicaciones comerciales son su inestabilidad química y baja fuerza tintórea. (Patil, Madhusudhan, Ravindra Babu, & Raghavarao, 2009). Los colorantes naturales son muy

inestables a factores como la luz, pH y oxígeno. (Chaparro, Paredes, Díaz, Hoyos, & Ninco, 2011)

La industria de jabones líquidos usa aditivos de apariencia como colorantes (Valderrama, 2012), La adición de ácidos grasos en matices de surfactantes aniónicos puede jugar un papel importante en la estabilidad de la espuma y la remoción de tintas de las fibras de celulosa. (Theander & Pugh, 2003). En jabones líquidos, se ha usado mezclas de surfactantes sintéticos y aceites de aguacate, de oliva, mineral, de ricino, para mejorar las propiedad humectantes y evitar la resequedad en la piel (Glenn Jr, 2001)

Los tintes naturales se consideran como económicos, atóxicos, además de ser un recurso renovable y sostenible con un mínimo impacto ambiental, tanto así que ha llamado la atención de la comunidad científica para potenciar su uso en diferentes áreas sin embargo todavía hay una serie de desafíos técnicos por resolver siendo necesario mejorar las metodologías de extracción para apuntar hacia una viabilidad económica de la producción de colorantes naturales en escala comercial y la utilización sostenible de los recursos biológicos. (Adeel, Ali, Bhatti, & Zsila, 2009)

Colorantes sintéticos como Verde N.º 3, Eritrosina (E-127), Tartrazina (E-102), Amarillo de quinoleína (E-104), Amarillo N.º 6 (E-110), Azorrubina (E-122), Rojo N.º 40, Azul patentado (E-131), se trabajan en la industria cosmética bajo la abreviación INCI (International Nomenclature Cosmetics Ingredient, Nomenclatura Internacional de Ingredientes Cosméticos) este tipo de colorantes emplean técnicas medioambientalmente insostenibles puesto que en su mayoría son colorantes azoicos que se obtienen a partir de la anilina el cual es un derivado de la industria petroquímica y se ha estudiado las repercusiones cancerígenas que tiene sobre ratas al ser ingeridas dando resultados positivos para cáncer lo cual supone una posibilidad de ser cancerígeno en humanos o generar efectos colaterales en la salud humana. (Kapadia et al., 1998)

El empleo de sustancias naturales ha tomado auge los últimos años, el avance de la ciencia ha permitido mostrar las bondades de los productos naturales y en contraste los efectos adversos del uso indiscriminado de colorantes sintéticos, los cuales son vertidos en los afluentes como desechos contaminantes, además de tener una gran persistencia en el ambiente por su carácter tóxico (Jiménez, G; Penninx, M. 2003).

La propuesta de investigación busca aportar una alternativa de manejo y aprovechamiento de uno de los residuos sólidos generados por la agroindustria del aguacate extrayendo un colorante de la semilla y aceite a partir de mesocarpios residuales del aguacate para evaluar algunos parámetros fisicoquímicos y biológicos e incorporarlos en una matriz tipo jabón líquido para generar valor agregado a estos residuos.

1.2 Justificación

Las pérdidas generadas en la industria de los alimentos y las prácticas de valorización de los residuos han adquirido mucha atención últimamente como medio de una gestión sostenible, que puede concomitantemente aumentar los beneficios para las economías locales. (Naziri, Nenadis, Mantzouridou, & Tsimidou, 2014).

Colombia es un gran productor y consumidor de aguacate, para el año 2013 la producción nacional fue alrededor de 280.000 toneladas y el área sembrada fue un poco más de 30.000 hectáreas. (Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, 2013). Las pérdidas de alimentos en los países industrializados son tan altas como en los países en desarrollo, pero hay que tener en cuenta que en los países en desarrollo más del 40 % de las pérdidas de alimentos se produce en las etapas de poscosecha y procesamiento, mientras que en los países industrializados más del 40 % de las pérdidas de alimentos se produce en la venta minorista y el consumo. (Gustavsson, Cederberg, Sonesson, Van Otterdijk, & Meybeck, 2012). Lo anterior indica que hay una gran oferta de este producto en el territorio nacional lo cual conduce a la implementación de estrategias para el manejo de los residuos generados en esta cadena productiva.

La tendencia del sector agroindustrial es generar valor agregado sobre los materias primas, en el caso del aguacate se transforma en guacamoles, pulpas de aguacate, tratamientos para el cabello y aceites para uso culinario y cosmético. En cuanto a la transformación de este producto se han logrado identificar por medio del Invima al año 2015 alrededor de 30 empresas en el país, las cuales emplean a escala industrial el aguacate como materia prima 25 de estas se dedican a la producción de pulpas de aguacate o guacamole y el restante a la producción de aceite, este último cobra importancia en la industria cosmética por sus propiedades hidratantes, antioxidantes y su alto contenido en vitamina E. (Park, Saleh, Vitry, & Wang, 2015)

El uso de los residuos para la transformación nuevos productos cobra importancia actualmente debido a la obligación en la mitigación del impacto ambiental por parte de las empresas generadoras y además por el hecho de dar un valor agregado a los subproductos de las industrias donde lo que era llamado residuo se convierta en algo útil para la humanidad apuntando a una sociedad más consciente por el cuidado del medio ambiente.

La obtención de un colorante natural constituye un reto, puesto que hay muchos factores fisicoquímicos que influyen, como como la luz, pH y oxígeno, (Chaparro et al., 2011), por esa razón la industria ha preferido usar colorantes sintéticos en vez de complicarse resolviendo los problemas de estabilidad de los colorantes naturales, por lo cual deciden usar sustancias que aunque no sean benéficas para la salud e incluso en algunos casos resultan ser tóxicas, cumplen con la labor elemental de colorear. La aplicación de un colorante natural a partir de la semilla de aguacate puede ser comercialmente significativa, debido a su alto contenido en fenoles y tener atributos funcionales los cuales deben ser explorados. (Dabas, Elias, Lambert, & Ziegler, 2011)

Además del jabón sólido tradicional, en los últimos treinta años han aparecido en el mercado de los cosméticos, los llamados jabones líquidos que tienen aplicaciones donde los primeros tienen limitaciones, por ejemplo la incorporación de aditivos naturales tienen demanda actualmente en este sector. (Valderrama, 2012). De esta manera se justifica el

aprovechamiento de aceite a partir de aguacates considerado como residuos y el uso de un colorante natural a partir de la semilla del aguacate para incorporarse finalmente en un jabón líquido como estrategia de mitigación en la disposición de este tipo de residuos agroindustriales.

1.3 Marco teórico

1.3.1 Producción de aguacate

La producción de las distintas variedades de aguacate en Colombia en los últimos años ha venido aumentando, tomando como referencia las estadísticas del Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural; en el año 2007 se cosecharon 173876 toneladas y para el 2013 se estimó 302871 toneladas lo que equivale a un incremento del 74% de producción. (Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, 2013). En la tabla 1-1 se muestra la producción nacional de aguacate para los años 2007 y 2013.

Tabla 1-1. Toneladas de aguacate en producidas en Colombia

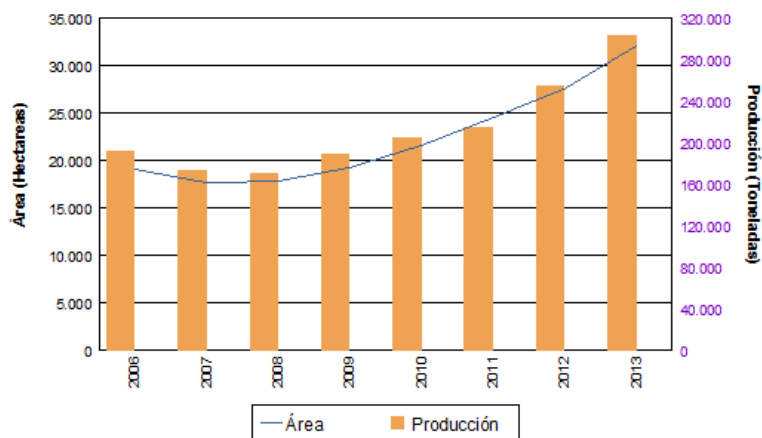
| Departamento | Toneladas Año 2007 | Toneladas Año 2013 |
|-----------------|--------------------|--------------------|
| Tolima | 41592.5 | 63223.9 |
| Antioquia | 19984.1 | 47941.2 |
| Caldas | 5471.2 | 39733.2 |
| Bolívar | 43080 | 30248 |
| Santander | 18684.6 | 27421.6 |
| Valle del Cauca | 12321.8 | 22958.9 |
| Cesar | 14078 | 15798 |
| Risaralda | 5336.2 | 14832.6 |

| | | |
|--------------------|--------|----------|
| Quindío | 3745.8 | 9105.2 |
| Meta | 511 | 7142 |
| Huila | 1810.2 | 4618.3 |
| Sucre | 1730 | 4044 |
| Cundinamarca | 1091 | 3566.5 |
| Cauca | 85.7 | 2757.6 |
| Arauca | - | 2500 |
| Norte de Santander | 1829.9 | 2246 |
| La Guajira | 1284 | 2067 |
| Boyacá | 1134 | 1445 |
| Chocó | - | 752.5 |
| Nariño | 106 | 469.9 |
| Casanare | 58 | |
| Total Toneladas | 173876 | 302871.4 |

Fuente: (Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, 2013)

A continuación se muestran la evolución de las áreas cosechadas en el país desde el año 2006 hasta el año 2013.

Figura 1-2. Área cosechada y de producción de Aguacates en Colombia



Fuente: (Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, 2013)

La variedad aguacate Lorena conocida también como Papelillo de raza Antillana, bastante difundido en Colombia, esta variedad se comporta muy bien a bajas altitudes; sin embargo, se ha evidenciado buen comportamiento en las zonas cafeteras de Colombia, hasta los 1.500 m.s.n.m. Esta variedad fue originada en la finca Lorena, en Palmira, Valle del Cauca, Colombia, en 1957. La época de cosecha en Colombia abarca desde mediados de noviembre a febrero y de abril a julio. (Bernal et al., 2008)

Las pérdidas que se generan por semilla de aguacate dependen de la variedad que se use, como se muestra en la Tabla 1-2

Tabla 1-2. Materiales de aguacate para procesamiento agroindustrial

| Variedad | Peso del fruto (g) | Cáscara % | Pulpa % | Semilla % | Grasa % |
|-----------|--------------------|-----------|---------|-----------|---------|
| Booth 7 | 350-570 | 10.6 | 70.5 | 18.5 | 10.5 |
| Booth 8 | 360-800 | 12.0 | 72.5 | 15.5 | 9.0 |
| Choquette | 680-1130 | 3.0 | 80.0 | 17.0 | 13.0 |

| | | | | | |
|----------|---------|-----|------|------|------|
| Hass | 170-400 | 5.5 | 72.0 | 11.5 | 17.8 |
| Lorena | 430-750 | 2.9 | 87.2 | 9.9 | 8.2 |
| Trinidad | 440-560 | 9.5 | 76.1 | 14.4 | 15.0 |
| Santana | 340-680 | 9.0 | 71.0 | 20.0 | 7.0 |

Fuente: (Amórtegui Ferro, Capera Ducuara, & Godoy Acosta, 2001)

En términos de pérdidas poscosecha se puede afirmar que es un porcentaje considerable puesto que las mermas por semilla están alrededor del 15%, es decir que el Departamento del Tolima en el año 2013 produjo 9483 Toneladas en semillas de aguacate. Además hay que tener en cuenta las pérdidas que se ocasionan por daños fisiológicos, de aplastamiento del producto en el transporte o incluso en la recolección. Por tanto nos enfrentamos a un problema sobre el manejo de estos residuos.

La industrialización del aguacate se enfoca principalmente sobre la parte comestible. En Colombia generalmente se transforma el aguacate en dos productos guacamole y aceite, procesamiento que deja gran cantidad de residuos expresados en cáscaras, semillas y frutos enteros que no cumplen con los estándares mínimos de calidad para procesar; uno de los retos de este sector es precisamente hacer uso integral del aguacate dando un valor agregado a la semilla y a la cáscara. La semilla del aguacate se le ha atribuido propiedades cosmetológicas y farmacéuticas. (Ramos, 2011) tal como se aprecia en la tabla 1-3 y 1-4 para

Tabla 1-3. Empresas transformadoras de pulpas de aguacate y guacamoles en Colombia.

| Establecimiento | Dirección | Registro Sanitario |
|-------------------------|--|--------------------------------|
| Griffith Colombia S.A.S | Kilómetro 39 autopista Medellín - Bogotá, Marinilla - | Rsaa17m21097 vigencia hasta |

| | | |
|---|---|---|
| | Antioquia | 2017 |
| Taco y nacho Mex S.A.S. | Carrera 51b nº 12 sur - 97 | Rsaa08i02299 vigencia hasta 2019 |
| Un solo proveedor S.A | Cra 45a nº. 67 b – 51 Bogotá | Rsaa17i9902 vigencia hasta 2023 |
| Dulce y salado Ltda. | Calle 32 c 85-31 Medellín | Rsaa12i10702 2022 |
| Pascuita Food Solutions Ltda. | Cl 73 a no. 68 g 41, Bogotá | Ps2013- 0001809. Vigencia hasta 2016 |
| Darwin torres Cristancho, propietario del establecimiento de comercio salsas de la abuela | Carrera 15 a 49 – 20, Cali | Rsav17i13705, vigencia hasta 2015 |
| Alimteco ltda. | Calle 5 N° 50-26, Medellín | Rsaa17i16906, vigencia hasta 2016 |
| C.I. Castaño y Hoyos Ltda. | Carrera 12 no. 13e-48 Barrio San Gregorio, Pereira | Rsar17i1406, vigencia hasta 2016 |
| Compañía Comercial E Industrial La Sabana Avesco S.A.S Avesco S.A.S | Calle 24f nº. 94 – 51, Bogotá | Rsad17i32407, vigencia hasta 2017 |
| C.i. K- listo comercializadora | Cra 36 nº 13 - 287 centro | Rsav17i20108, |

| | | |
|---|--|---|
| internacional S.A.S. | industrial el portal bodega 1 (cra 36 n° 13 - 151) acopi, yumbo, valle | vigencia hasta 2018 |
| Pulconservas de mi tierra establecimiento de comercio de propiedad de Claudia Esperanza Camargo Vásquez | Calle 41b n° 61 e 11, Rionegro , Antioquia | Rsaa17i27308, vigencia hasta 2019 |
| Alimentos oro verde S.A.S | Calle 28 no. 73 58, Medellín | Rsaa17i29109, vigencia hasta 2019 |
| Oscar Javier Pantoja palacio propietario del establecimiento de comercio productos alimenticios d' la abuela | Cra 5 n° 6-32, Puerto Colombia | Rsak17i10710, vigencia hasta 2020 |
| Procesadora de Alimentos El Maguey Limitada | Cl 39 n no. 2e 64, Cali | Rsav05i5010, vigencia hasta 2020 |
| Productos Alimenticios San Pacho S.A.S | Vda Alto De La Virgen,Guarne, Antioquia | Rsaa17i31610, vigencia hasta 2020 |
| Guacamole Listo S.A.S. | Cr 8 n° 37-10, Bogotá | Rsad17i40110, vigencia hasta 2020 |
| Rigoberto Acevedo López propietario del establecimiento de comercio denominado conservas de la casa | Cra. 79 n° 45-11, Medellín | Rsaa05i17511, vigencia hasta 2021 |

| | | |
|--|---|-----------------------------------|
| Franco García Elkin Darío propietario del establecimiento de comercio denominado el Chapatacon | Calle 20 n°. 19-61, Retiro, Antioquia | Rsaa05i20611, vigencia hasta 2021 |
| Industrias alimenticias d'sabor establecimiento de comercio de propiedad de Luz Eneida Pérez4 Restrepo | Cra. 36 n° 48-56, Medellín. | Rsaa07i5212, vigencia hasta 2022 |
| Zuluaga Colorado Natalia propietaria del establecimiento de comercio de la Pachamama | Calle 9 n° 9-38, Belén De Umbría, Risaralda | Rsar17i3012 |
| Productos alimenticios la locura s.a. - pall S.A. | Avenida Roosevelt #30-54, Cali, | Rsav17i25012, vigencia 2020 |
| Salsa Dorié establecimiento de comercio de propiedad Vasco Orozco Mónica Dorie | Cl 39d # 25 - 89 Int 103, Envigado | Rsaa17i36912, vigencia hasta 2023 |
| Saboresmonteclaro S.A.S. | Calle 27 b # 58-17, Bello, Antioquia | Rsaa17i39114, vigencia hasta 2024 |
| Jorge Aristizabal Bernal propietario del establecimiento de comercio verde puro | Carrera 65d n 32d – 23, Medellín, Antioquia | Rsaa17i40514, vigencia hasta 2024 |

Tabla 1-4: Empresas productoras y comercializadoras de aceite de aguacate en Colombia.

| Establecimiento | Dirección | Registro Sanitario |
|-----------------|-----------|--------------------|
|-----------------|-----------|--------------------|

| | | |
|--|---|----------------------------------|
| Bio-oil s.a.s. | Calle 26a no. 43f-08, Medellín. | Rsaa18i1508, vigencia hasta 2017 |
| Rikisamas Komerzializadora Multiactiva Krear Forma E.U. | Rd. Sierra linda 350 m entrada, Guarne, Antioquía | Rsaa18i1910, 2020 |
| Biocate Ltda. | Avenida corpas kilómetro 3 suba, Bogotá | Nsc2007co25247, 2017 |
| Green Hass S.A.S | Cra 22 n° 72-50, Manizales, caldas | Nsoc62483-14co, 2021 |
| Lissia laboratorios establecimiento de comercio propiedad de Carlos Buitrago Buitrago | Calle 21a n° 69b – 86, Bogotá | Nsoc2152-00co, 2020 |

Fuente: el autor.

1.3.2 Propiedades y usos de los residuos del aguacate

La semilla de aguacate representa entre el 12 y 16% del total en peso del fruto de aguacate y actualmente la semilla es considerada un producto de desecho. Estudios fitoquímicos indican que la semilla de aguacate es rica en numerosos clases de metabolitos secundarios incluyendo polifenoles, ácidos grasos y alcaloides también los estudios han indicado beneficios potenciales para la salud, como anticancerígeno, regulador del colesterol, antimicrobiano y antiinflamatorios. (Dabas, M Shegog, R Ziegler, & D Lambert, 2013). En la tabla 1-5 se presentan algunas investigaciones frente a algunas actividades biológicas de los metabolitos presentes en la semilla del aguacate.

Tabla 1-5 Investigaciones realizada sobre la actividad biológica de la semilla de aguacate

| Efecto | Modelo | Método | de | Referencia |
|--------|--------|--------|----|------------|
| | | | | |

| | | extracción | |
|---------------------|--|---|--|
| Anticancerígeno | MDA-MB-231 esta línea celular <i>MDA-MB-231</i> es una de las más utilizadas para el estudio experimental in vitro del cáncer de mama. | Extractos metanólicos concentraciones mayores a 100 µg/ml | (Lee, Yu, Lee, & Lee, 2008) |
| Usos dermatológicos | Queratinocitos in vitro, Proliferación y viabilidad celular | 10 µg/ml agua-acetato de etilo extracto de semilla y HSCCC fracción de la semilla. | (Ramos-Jerz, Villanueva, & Deters, 2007) |
| Usos dermatológicos | Humanos | 5-10% fracción insaponificable de los lípidos de semilla de aguacate aplicados en la piel por 2-6 semanas | (Moy, 1999) |
| Antimicrobiano | <i>S. aureus. and B. subtilis in vitro</i> | Fracción de terpenoides y alcaloides de extracto de semilla de aguacate | (Nagaraj et al., 2010) |
| Insecticida | <i>Aede Egipty</i> | 16,7 mg/ml extracto con hexano de semilla, 8,9 mg/ml extracto con | (Leite et al., 2009) |

| | | | |
|-----------|-------|--|---------------------------------------|
| | | metanol | |
| Toxicidad | Ratas | 2-10 g/Kg extracto acuoso administrado como dosis sola | (Ozolua, Anaka, Okpo, & Idogun, 2009) |

Fuente: (Dabas et al., 2013)

Los altos contenidos de componentes bioactivos presente en los subproductos de frutos exóticos pueden ser usados como aditivos en alimentos. Estos subproductos tienen un alto potencial agroindustrial como fuente de antioxidantes naturales (previniendo la oxidación y pardeamiento como ingrediente funcional en alimentos), antimicrobiano, saborizantes, colorantes y texturizantes. (Ayala-Zavala et al., 2011).

1.3.3 Obtención de Colorantes Naturales

A partir de la semilla del aguacate es posible extraer un colorante, el cual contiene antocianinas, dicho proceso se puede realizar con solución diluida de hidróxido de sodio y una vez procesado se obtiene un polvo, soluble en agua y parcialmente en alcohol etílico, pudiendo ser usado para darle color a fibras naturales y a alimentos lácteos y de panadería para modificar su apariencia, una vez purificado por disolución de etanol. (J. E. Devia & Saldarriaga, 2012)

El método más usual de extracción es por maceración de la muestra con una solución de HCL 1% en metanol (en etanol en caso de utilizarlos para alimentos), manteniéndolo a temperaturas de refrigeración por un lapso de más de 8 horas. (Lock, 1997)

La extracción de antocianinas en combinación con etanol y HCl , ha sido estudiada en diferentes materiales vegetales, dando excelentes resultados, (Chandrasekhar, Madhusudhan, & Raghavarao, 2012).

Aunque la concentración de antocianinas se incrementa con el uso de HCL, no es buena idea usar altas dosis de HCL si se trabaja para alimentos. Solventes como el etanol,

metanol y acetona son comúnmente usados para la extracción de colorantes naturales, sin embargo solventes como el metanol y la acetona resultan tóxicos para la salud, además la presencia de alcohol (considerado como seguro) en los extractos puede limitar el uso de este tipo de colorantes en alimentos. (Patil, Madhusudhan, Babu, & Raghavarao, 2009).

Para el análisis de las frutas frescas, partes comestibles y semillas se recolectaron antes de su consumo. Aproximadamente 1g y 200 mg de cada porción comestible y de semillas fueron pesadas y sometidas a reflujo a un volumen de 20 o 50 ml de la mezcla etanol y agua (50:50, v/v) a 70°C durante 1 hora. Posteriormente se filtra con papel Whatman número 4. (Soong & Barlow, 2004).

Para la extracción de un colorante a partir de la semilla de aguacate (*Persea gratissima Goerin*) se trabajó de la siguiente manera, obteniendo los mejores resultados, dos horas de extracción, con agitación a 150 rpm y a una temperatura de 75° C, con una solución acuosa de NaOH al 0.5% y con una relación de sólido a solvente de 0.05. (J. Devia & Saldarriaga, 2005).

Lo anterior conduce a la necesidad de la estandarización de los métodos de extracción según sea el uso final y evaluar el comportamiento del colorante como ingrediente bajo condiciones normales de conservación

1.3.4 Evaluación de la Actividad antioxidante

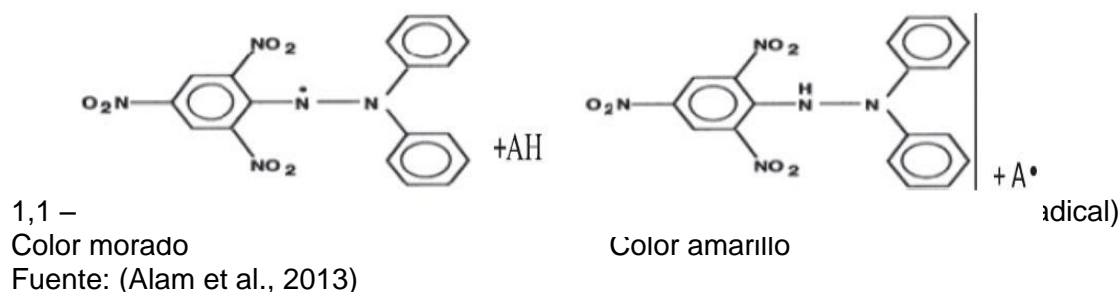
La actividad antioxidante es la capacidad de una sustancia para inhibir la degradación oxidativa (por ejemplo, la peroxidación lipídica), de tal manera que un antioxidante actúa, principalmente, gracias a su capacidad para reaccionar con radicales libres y, por lo tanto, recibe el nombre de antioxidante terminador de cadena. (Londoño, 2012)

El uso de 2,2-Difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) es una manera rápida y practica de evaluar la actividad antiradical de los antioxidantes, sin embargo la toma de datos e interpretación

de los mismos deben hacer con precaución, la interacción de un potencial antioxidante con DPPH depende de su formación estructural, ciertos componentes reaccionan muy rápidamente con el DPPH, reduciendo el número de moléculas de DPPH correspondiente al número de grupos hidroxilos disponibles. (Brand-Williams, Cuvelier, & Berset, 1995)

La medición de la actividad antioxidante por DPPH es el métodos más frecuente usado in vitro, aunque existen muchos más métodos es el más sencillo, rápido económico puesto que no requiere muchos pasos ni reactivos, y puede ser usado para analizar en alimentos, muestras biológicas y extractos vegetales. (Alam, Bristi, & Rafiquzzaman, 2013)

Figura 1-2. Estructura del DPPH antes y después de la reacción con la sustancia antioxidante



El ensayo de DPPH es un método confiable para determinar la capacidad antioxidante de sustratos de origen biológico. (Chen, Bertin, & Frolidi, 2013). La mayoría de los estudios están basados en un tiempo de reacción de 20-30 min en vez de un tiempo de reacción total de 120 minutos requerido para alcanzar el estado estacionario y completar la reacción redox. (Mishra, Ojha, & Chaudhury, 2012)

1.3.5 Evaluación de la Actividad antimicrobiana

La actividad antibacterial de los extractos de la semilla de aguacate (*Persea gratissima Gaertner*) ha sido estudiada por (Nagaraj et al., 2010) mostrando alta actividad antibacterial frente a dos bacterias patógenas, *Staphylococcus aureus* y *Bacillus subtilis*

además concluyó que estas semillas de aguacate tienen un alto potencial medicinal el cual puede ser usado para diferentes propósitos.

El método de difusión en disco de KirbyBauer tiene como propósito determinar la sensibilidad o resistencia de patógenos bacterias aerobias y anaerobias facultativas a diversos compuestos antimicrobianos. El organismo patógeno se cultiva en agar de Mueller Hinton en presencia de varios discos de papel impregnado de las sustancias antimicrobianas que se desean estudiar. La presencia o ausencia de crecimiento alrededor de los discos es una medida indirecta de la capacidad de ese compuesto para inhibir ese organismo. (Hudzicki, 2009)

1.3.6 Evaluación del color

El color es una respuesta mental a un espectro visible de la luz reflejada o emitida desde un objeto. Dicha respuesta interactúa en el ojo con la retina, y se transmite entonces al cerebro por el nervio óptico, lo que hace asignar colores a esta señal en el sujeto. (Wu & Sun, 2013)

La Comisión Internacional de Iluminación, CIE, propone que los colores están basados en tres criterios, la luminosidad coordenada acromática L^* (donde un número de 0 – 50 indica negro u oscuridad y de 51 -100 indica blanco o claridad), la coordenada a^* (donde un número positivo indica rojo y un número negativo indica verde), la coordenada b^* (donde un número positivo indica amarillo y un número negativo indica azul). (Schanda, 2007)

Opcionalmente mediante ecuaciones el sistema CIELAB permite cuantificar el color con base en las coordenadas definidas por la luminosidad (L^*), tonalidad (h^*) y saturación (C). (Hurtado de Mendoza Borges, 2015)

Figura 1-3. Espacio de color CIELab L^* , a^* , b^*



Fuente: (Hunter Associates Laboratory, 2012)

La variación del color se puede estimar mediante el ΔE^* , previa definición de los parámetros L^* , a^* y b^* , (Manayay, Ribas, Castillo, & Palacios, 2013).

Ecuación 1-1. Variación del color expresado en ΔE^* .

$$\Delta E = \sqrt{(L_o - L_i)^2 + (a_o - a_i)^2 + (b_o - b_i)^2}$$

ΔE : Variación o alteración del color

Δa^* : Variación del verde al rojo entre las mediciones

Δb^* : variación del azul al amarillo entre las mediciones

ΔL^* : variación de la luminosidad entre e las mediciones

Para estimar la diferencia del color a través del ΔE (Hikita, Toyoda, & Azuma, 2001) estableció una escala que indica lo siguiente, ΔE entre 0,0 y 0,5: Diferencia despreciable al ojo humano, ΔE entre 0,5 y 1,5: Ligeramente despreciable al ojo humano, ΔE entre 1,5- 3,0: Diferencia notable al ojo humano, ΔE entre 3,0 - 6,0: Diferencia apreciable al ojo humano, ΔE entre 6,0 y 12,0 Diferencia muy apreciable. Similarmente (Obón, Castellar, Alacid, & Fernández-López, 2009) infirió que un ΔE de 0 a 1,5 puede considerarse como pequeña y casi imperceptible a una observación visual, un ΔE d 1,5 a 5 la diferencia de color puede distinguirse, mientras que un ΔE mayor a 5 la diferencia de color es evidente.

1.3.7 Generalidades del aceite de aguacate y extracción por método Soxhlet

La obtención de aceite de aguacate variedad "Hass" (*Persea americana Mill*), surge como una alternativa de aprovechamiento del fruto con el fin de fortalecer la cadena productiva del mismo y contrarrestar las pérdidas de los productores por la sobreproducción en Colombia. (Serpa et al., 2014)

El aceite de aguacate es rico en vitaminas A, B, C y E, y está compuesto mayoritariamente por ácidos grasos monoinsaturados (Salgado, Gómez, & Salazar, 2012). En un perfil cromatográfico del aceite de aguacate se encuentran los ácidos grasos esenciales además de vitamina E, importante antioxidante lipofílico. (Tovar, 2003). La composición de del aceite se puede apreciar en la Tabla 1-6.

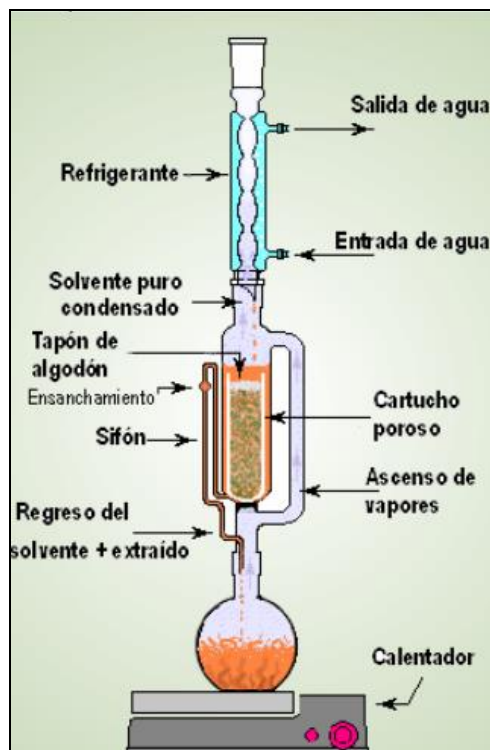
Tabla 1-6. Perfil cromatográfico del aceite de aguacate variedad Hass

| | | |
|---------|--------------|---------|
| C 16 | Palmítico | 13,76 % |
| C 16:1 | Palmitoleico | 5,98 % |
| C 18 | Esteárico | 1,48 % |
| C 18:1 | Oleico | 64,87% |
| C 18:2 | Linoleíco | 11,13% |
| C 18: 3 | Linolénico | 2,52% |
| C 20 | Araquidónico | 0,09% |

Fuente: (Tovar, 2003)

La extracción soxhlet funciona cíclicamente, básicamente cuando el solvente se evapora asciende en forma de vapor, hasta la superficie donde es condensado, al caer y regresar a la cámara de solvente va separando los químicos, hasta que llega a una concentración deseada. El equipo está diseñado para aplicaciones a nivel micro durante el análisis y experimentaciones en procesos de extracción de grasas. (Acosta, 2011)

Figura 1-4. Montaje para la extracción con Soxhlet en el momento que se produce el sifonamiento del solvente.



Fuente: (Núñez, 2008)

1.3.8 Índices de calidad en aceites

El aceite es el componente más importante del aguacate, que alcanza niveles hasta del 25%, dependiendo de la variedad y la madurez. (Restrepo, Londoño-Londoño, Álvarez, Paz, & Salazar, 2012)

Entre los parámetros utilizados para verificar la calidad de los aceites como el de aguacate están; la densidad, índice de refracción, índice de saponificación, índice de yodo, índice de peróxidos, índice de acidez y % ácidos grasos. (Jimenez, Camarena, & Chapman, 2014). A continuación se explican los ítems fisicoquímicos más relevantes en la calidad del aceite de aguacate:

Densidad: Esta es una constante que no varía mucho para un aceite determinado cuando esta puro y fresco, pero es afectada por la edad rancidez y cualquier tratamiento especial que se le haga al aceite. Los valores obtenidos se deben a diferentes ácidos grasos presentes, aumentando cuando incrementa el peso molecular de los ácidos combinados (Bernal de Ramírez, 1993)

Índice de acidez: Es el número de miligramos de hidróxido de potasio requeridos para neutralizar los ácidos grasos libres en 1 de grasa, (Icontec NTC 218, 2011)

Índice de peróxidos: Es una medición de la cantidad de oxígeno enlazado químicamente a un aceite o una grasa en forma de peróxidos, en particular de hidroperóxidos. El método es aplicable a todas las grasas y aceites animales y vegetales, ácidos grasos y sus mezclas con valores de peróxido desde 0 meqO₂/kg hasta 30 meqO₂/kg. Se debe observar que el valor de peróxido es un parámetro dinámico cuyo valor depende de las historia de la muestra. Además, la determinación del valor de peróxido es un procedimiento altamente empírico y el valor que se obtiene depende de la masa de la muestra. El índice de peróxidos proporciona información acerca del grado de oxidación de la muestra. Esta información es de gran importancia en el análisis fisicoquímico de cualquier grasa ya que permite hacer estimación de hasta qué punto la grasa ha sido alterada. Debe tenerse en cuenta que si la oxidación está muy avanzada se producirá un aumento progresivo de la degradación de los peróxidos por lo que el índice descenderá (Icontec NTC 236, 2011)

Índice de saponificación: Es el número de miligramos de KOH requeridos para saponificar un gramo de aceite o grasa. Los aceites o grasas que se consideran, como ésteres de glicéridos de ácidos grasos, pueden hidrolizarse en glicerol y ácidos grasos o pueden descomponerse por bases en glicerol y sales de ácidos grasos. Una reacción típica es la llamada saponificación. Las diferencias encontradas en el valor de saponificación se deben al hecho que los ésteres de los ácidos de bajo pesos equivalentes, requieren más base para la saponificación que el mismo peso en gramos de aquellos de más alto peso equivalente (Bernal de Ramírez, 1993).

Índice de yodo: Determinación del grado de insaturación de una grasa, expresada como el número de gramos de yodo absorbidos por 100 g de muestra. Es una medida del grado de insaturación de los componentes de una grasa. Será mayor cuanto mayor sea el número de dobles enlaces por unidad de grasa, utilizándose por ello para comprobar la pureza y la identidad de las grasas (por ejemplo, el índice de yodo del ácido oleico es 90, del ácido linoleico es 181 y del ácido linolénico 274). A la vez que los dobles enlaces de los ácidos grasos insaturados se determinan también las sustancias acompañantes insaturadas, por ejemplo, los esteroides (Bernal de Ramírez, 1993).

En este sentido para el aceite de aguacate se han reportado diferentes parámetros en cuanto a la calidad del producto, sin embargo algo contundente que define estos ítems es los métodos de extracción, como se muestra a continuación en la tabla 1-7.

Tabla 1-7 Características fisicoquímicas del aceite de aguacate variedad Hass extraído con tratamiento enzimático

| Parámetro de Calidad | Valor experimental aceite de aguacate variedad Hass |
|---|--|
| Densidad Relativa | 0,91 |
| Humedad (%) | 0,31 |
| Índice de refracción | 1,47 |
| Índice de acidez (%m/m) | 3,13 |
| Índice de peróxidos (meq. de oxígeno peróxido/Kg) | 19,90 |
| Índice de yodo (g/g) | 82,00 |
| Índice de saponificación (%) | 147 |

Fuente: (Acosta, 2011)

1.3.9 Generalidades y formulación del Jabón líquido

La Norma Técnica Colombiana (NTC) 709, define el jabón líquido como: aquel que se encuentra en solución o emulsión tipo aceite-agua. El jabón líquido no debe presentar turbiedad a 5 °C y debe ser fluido transparente ambiente, poseer olor agradable y no ser irritante a la piel normal.

El jabón es uno de los elementos más utilizados para la higiene y limpieza personal por sus propiedades anfóteras. Su función principal se fundamenta en la limpiar y eliminar la suciedad de una superficie determinada. (Ortiz, 2016). Los requerimientos a cumplir según la norma se presentan en la Tabla 1-8.

Tabla 1-8 Requisitos establecidos por la NTC 709 para la aceptación del jabón líquido.

| Requisitos | Porcentaje en masa |
|---|--------------------|
| Jabón anhidro, expresado como potásico, mínimo | 15 |
| Cloruros, Expresado en Cloruro de potasio (KCL), máximo | 0,2 |
| Materia insoluble en agua, máximo | 0,1 |
| Acidez libre | 0,0 |
| Álcali libe, expresado como KOH, máximo | 0,1 |

Fuente: (Icontec NTC 709, 2008)

Los componentes de los jabones líquidos se pueden clasificar en 6 grupos: ingredientes activos, tensoactivos, aditivos de apariencia, reguladores de pH, preservantes y excipientes. Al primero pertenecen compuestos como el antibacteriano triclosán; de los tensoactivos uno muy usado es el lauril éter sulfato de sodio; aditivos de apariencia como

colorantes, agentes de perlado, perfumes y espesantes como las hidroxietilcelulosas y los carbómeros; preservantes muy usados son las isotiazolinonas; como excipiente se usa agua desionizada. También los cosméticos con aditivos naturales tienen demanda actualmente. (Valderrama, 2012)

En la formulación de jabón líquido trabajan diferentes variantes según las necesidades de los clientes, generalmente se reporta la adición de agua (82,30%), Texapon 70 (10%), Proamide OPR (2,5), Genagen CAB (0,9%), Glicerina (0,5), Lubricante (1,0 %), Humectante (0,5%), Hidratante (0,5%), Espumante (1,0%), Preservante (0,14%), Ácido cítrico (0,04%), Fragancia (0,6%), Cloruro de Sodio (2%). (Ortiz P, 2016). En un estudio similar se formuló el jabón con los siguientes ingredientes; Texapón, Cloruro de sodio, agua desmineralizada, metil parabeno puro, colorante vegetal y fragancia. (Cuca Y, 2012). Bajó una patente se registró un jabón líquido con los siguientes ingredientes; Agua (39%), Lauril sulfato de amonio (12,0 %), Lauril sulfato de sodio (18,0 %), Glicerina (1,0 %), EDTA (0,05 %), DMDM hidantoína (0,40 %), Triclosan (0,19 %), Fragancia (0,25%), Peg-18 (0,88%), Decil poliglucosida (3,30%), Tocoferol (0,25%), Cocoamidopropil betaina (1,82%), Microcapsulas que contienen vitaminas (2,0 %), Colorante amarillo No 6 (0,00619%), Colorante rojo No 4 (0,00033%), acrilatos (7,0%), Hidróxido de sodio (0,25%), cocoamida (3,68%). (Patel, 2005).

1.4 Metodología

1.4.1 Extracción de colorantes y evaluación de rendimientos

Se realizó selección y clasificación de las semillas de aguacate variedad Lorena cosechados en la finca la fortuna vereda Todo Santos, municipio de Mariquita, Tolima. Latitud: 5° 14 N, Longitud: 74° 57' O, altitud promedio: 1100 msnm, catalogados según la NTC 5209 como maduración de consumo, se realizó la reducción de tamaño con cortes tipo hojuelas de 3 mm. El material se secó a 55°C durante 14 horas en un horno marca Memmert UF 55, a continuación se molió y se filtró en malla de 500 micras.

Para la extracción del colorante se empleó tres solventes por separado; Agua destilada, Solución acuosa de NaOH al 0.5% y mezcla de 50% Agua destilada y 50% de alcohol etílico, se mantuvo constante la relación de 0,05 semilla molida-solvente en los experimentos, temperatura de 45 °C, tiempo de extracción 120 minutos, en sistema por reflujo. Los rendimientos se calcularon en un determinador de humedad *Precisa XM 60* HR. Se hizo análisis de varianza empleando Statgraphics versión Centurion para determinar la extracción más eficiente y a partir de este dato se realizaran las diluciones pertinentes para los ensayos de estabilidad del colorante.

1.4.2 Evaluación de la actividad antioxidante

La actividad antioxidante se realizó con DPPH a través del método aplicado por *Brand-Williams, Cuvelier, & Berset*, (1995), el cual se basa en la reducción de la absorbancia medida a 515 nm del radical DPPH•. 1,1 –difenil-2-picril-hidrazilo.

Para la determinación de la actividad antioxidante de los extractos, se tomaron 200 µL de cada extracto a concentraciones diferentes y se le adicionó a cada uno 2800 µL de la disolución de DPPH al 0,1 mM. Todas las reacciones fueron llevadas a una cámara oscura durante 30 minutos a temperatura ambiente y se midió la absorbancia a 518 nm en un espectrofotómetro marca Jenway 7305, los experimentos se realizaron por triplicado a cada concentración. Se usó el ácido -2 -carboxílico-6- hidroxil-2,5,7,8 – tetrametilcromo (Trolox) como patrón de referencia por ser un potente antioxidante

Se evaluó el % de inhibición antioxidante de las siguientes muestras a diferentes concentraciones expresadas en ppm; extracto acuoso con NaOH a pH 9,3 y neutralizado a pH 7, Extracto con agua a pH 5,1 y neutralizado a pH 7 y Extracto acuoso con alcohol etílico a pH 5,8 y pH 7.

La actividad antioxidante se reportó como el porcentaje de inhibición lo cual hace referencia a la cantidad de radical DPPH neutralizado por el extracto a una determinada concentración. De acuerdo a la siguiente ecuación.

Ecuación 1-2. Cálculo del porcentaje de inhibición antioxidante

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{A - A_1}{A} \cdot 100$$

A= Absorbancia del blanco

A1= Absorbancia de la muestra.

Se usó Statgraphics versión centurión en el modo regresión lineal simple para predecir el porcentaje de inhibición a diferentes concentraciones.

1.4.3 Evaluación de la actividad antimicrobiana

Los microorganismos seleccionados para el ensayo fueron una especie gram positiva *Staphylococcus aureus subsp* ATCC 29213 y una especie gram negativa *Escherichia coli subsp* ATCC 25992. Se Evaluó la actividad antimicrobiana a través del método de difusión en disco de Kirby Bauer. (Hudzicki, 2009). Para desarrollar esta técnica se aislaron las cepas en sus respectivos medios de cultivo, agar EMB, para *Escherichia coli* y agar Baird Parker para *Saphylococcus aureus*, se tomó por cada microorganismos de 3 a 5 colonias y se colocó en 5 mL de solución salina al 0,85 %, se ajustó a la concentración del Tubo Numero 0,5 Mc Farland ($1,5 \times 10^6$ UFC/ ml). Una vez ajustada la suspensión se sembró masivamente con escobillón estéril en el Agar Mueller Hinton para cada microorganismo. Luego se colocó en la superficie del agar los discos de papel filtro estériles de 10 mm de diámetro previamente impregnados y secados en una caja de Petri cerrada con 0,1 mL de las concentraciones de los extractos de la semilla de aguacate; 5000 ppm del Extracto con NaOH, 5000 ppm del extracto solo con agua y 5000 ppm del extracto con agua y etanol. El control positivo fue un disco con cloranfenicol (10 mg/mL). Se dejó en incubación a 37 °C durante 24 horas, luego de este periodo se realizó la lectura de los halos de inhibición. Se realizó los ensayos de actividad antimicrobiana por triplicado.

1.4.4 Evaluación del color

Al extracto que presentó mayor rendimiento se le calculó el color en coordenadas del espacio CIELab (L^* , a^* , b^*) en un colorímetro Konica Minolta Cr- 5 (Figura 1-5) con aditamento para análisis de líquidos. El experimento se evaluó a diferentes concentraciones diluidas en un matriz de jabón líquido (1%, 2% y 3%) y pH (6,2), durante un periodo de 1 mes, almacenadas a temperatura ambiente y expuesta a la luz. Se realizó mediciones por triplicado y análisis de varianza empleando Statgraphics versión Centurion. La diferencia del color entre las muestras se expresó en ΔE^* (Hikita et al., 2001) y (Obón et al., 2009).

Figura 1-5 Colorímetro Konica Minolta Cr- 5



Fuente: El autor.

1.4.5 Extracción de aceite de aguacate por método Soxhlet

Se escogió aguacate variedad Hass, en estado de madurez avanzado no aptos para comercialización, se disminuyó de tamaño y se secó en horno marca Memmert UF 55 plus a 50°C durante 12 horas. Posteriormente se realizó la extracción total de la materia

grasa libre por el método soxhlet durante 4 horas con hexano grado HPLC marca Scientific.

Figura 1-6 Aguacate variedad Hass no aptos para comercialización



Se analizó el perfil de ácidos grasos por medio de cromatografía de gases FID, en un cromatógrafo Thermoscientific Trace 1310 con una columna rtx-5, Resteq Corporation de 30 m de largo, 0,32 mm de diámetro interno y un espesor de película de 1 micrómetro bajo las siguientes condiciones:

- Volumen de inyección: 1.0 μ L
- Temperatura del inyector: 230 $^{\circ}$ C
- Temperatura del detector: 250 $^{\circ}$ C
- Presión de columna: 23.04 psi
- Velocidad promedio del gas portador: 40.0 cm/s
- Flujo de hidrógeno en el detector: 45 mL/min
- Flujo de aire en el detector: 450 mL/min
- Flujo de gas makeup (N_2): 45 mL/min
- Flujo de split: 70.2 mL/min

- Relación de split: 40:1

Rampa de temperatura: Temperatura inicial de la columna 190 °C (por 12 min.) se eleva la temperatura hasta 220 °C con una rata de 2.0 °C por 4.0min.

La composición de los ácidos grasos fue hallada por comparación de los tiempos de retención de los picos obtenidos con los patrones FAMES para un grupo de los metil esterres de los ácidos respectivos.

1.4.6 Determinación de parámetros de calidad de aceite de aguacate

Al aceite de aguacate Hass proveniente de frutos no aptos para comercialización se analizó en cuanto a los parámetros mencionados en la Tabla 1-9, tal como se presenta a continuación según el Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación

Tabla 1-9 Métodos de determinación de parámetros para evaluar la calidad de aceites

| Ensayo | Norma Técnica Colombiana |
|--|---------------------------------|
| Método de determinación de densidad | NTC 336 |
| Método de determinación de índice de Yodo | NTC 283 |
| Método de determinación del índice de peróxido | NTC 236 |
| Método de determinación del índice de refracción | NTC 289 |
| Método de determinación del índice de acidez | NTC 218 |
| Método de determinación del índice de índice de saponificación | NTC 335 |

1.4.7 Formulación jabón líquido y evaluación de su estabilidad

En un vaso de precipitación se mezcló el texapón (Lauril éter sulfato de sodio) 40 con el agua destilada, se llevó a una plancha con agitación magnética a 200 rpm, posteriormente se agregó en el siguiente orden los demás ingredientes; benzoato de sodio, cocamidopropil betaína, glicerina, colorante, alcohol y la sal, lo anterior hasta una completa incorporación de ingredientes. Las diferentes formulaciones se presentan en la tabla 1-10.

Tabla 1-10 Formulaciones de jabones líquidos

| Ingredientes | Fórmula 1 | Fórmula 2 | Fórmula 3 | Fórmula 4 |
|--------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| Agua | 54,90% | 53,90% | 52,90% | 52,70% |
| Colorante aguacate | 1,00% | 2,00% | 3,00% | 3,00% |
| Esencia | 0,00% | 0,00% | 0,00% | 0,20% |
| Aceite de aguacate | 0,00% | 0,00% | 0,00% | 2,00% |

- Los siguientes ingredientes se trabajaron en iguales proporciones para las 4 formulaciones: Sal 4%, Alcohol 2%, Benzoato de Sodio 0,3%, Texapón 40 35%, Cocamidopropil Betaína 1,5%, Glicerina 1,0 %, Ácido bórico 0,3%

Se evaluó el comportamiento del color en coordenadas del espacio CIELab (L^* , a^* , b^*) con un colorímetro Konica Minolta Cr- 5 con aditamento para análisis de líquidos y la variación del pH se midió con un potenciómetro Lovibon SD 300. Las muestras de los jabones fueron evaluados durante un mes almacenados a temperatura ambiente y expuestos a la luz.

1.4.8 Evaluación de la formulación de jabón líquido según normatividad vigente

Se evaluaron dos muestras de acuerdo a la Norma Técnica Colombiana 709 (NTC), la primera un jabón con colorante de aguacate al 1 % sin la adición de cloruro de sodio y la segunda con colorante al 2%, aceite de aguacate y con cloruro de Sodio. Lo anterior

para determinar si cumple con la normatividad necesaria para comercializarse en Colombia y determinar el efecto de la sal puesto que gran parte de los jabones líquidos en Colombia declaran en sus ingredientes la adición de Cloruro de Sodio.

Tabla 1-11 Ensayos requeridos para determinación de parámetros en jabón líquido según NTC 709.

| Ensayo | Norma Técnica Colombiana |
|---|---------------------------------|
| Determinación del jabón potásico anhidro | NTC 616 |
| Determinación del contenido de cloruros | NTC 546 |
| Determinación de Álcali Libre | NTC 514 |
| Determinación de Acidez Libre | NTC 514 |
| Determinación de la materia insoluble en agua | NTC 568 |

2 CAPÍTULO 2: RENDIMIENTOS DE EXTRACCIÓN, PROPIEDADES ANTIOXIDANTES Y ANTIMICROBIANAS DE EXTRACTOS DE DIFERENTE POLARIDAD OBTENIDOS A PARTIR DE LA SEMILLA DE AGUACATE (PERSEA AMERICANA MILL VARIEDAD LORENA)

2.1 Resultados y discusión

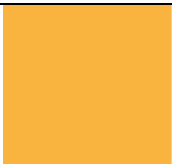
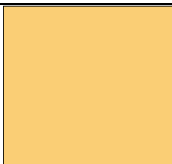
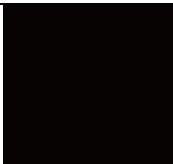
2.1.1 Rendimientos de extracción

El rendimiento en el secado de la semilla reportó $27,90 \pm 0,99\%$. La extracción más eficiente fue mediante hidróxido de sodio expresada en % peso a volumen de sólidos totales extraídos de la semilla de aguacate (variedad Lorena) con un promedio de $1,61\% \pm 0,02$ con un color en coordenadas CIELab de $L^* = 0,15$, $a^* = 0,05$ y $b^* = -0,44$, seguida de la extracción con alcohol $1,49\% \pm 0,005$ con un color en coordenadas CIELab de $L^* = 76,89$, $a^* = 15,49$ y $b^* = 66,74$ y la de menor rendimiento se reportó con agua destilada, $0,52 \pm 0,041\%$ con un color en coordenadas Cielab de $L^* = 85,08$, $a^* = 5,05$ y $b^* = 50,25$.

La ANOVA determinó que con un nivel del 95,0% de confianza que existe una diferencia estadísticamente significativa de la media de Porcentaje de Sólidos Totales entre un nivel de tratamiento y otro.

Adicionalmente los valores de L^* , a^* y b^* obtenidos con la extracción acuosa de hidróxido de sodio son los que reflejan una capacidad tintórea más fuerte, tal como se muestra en la Tablas 2-1.

Tabla 2-1 Gammas de color obtenido con diferentes solventes a partir de semilla de aguacate.

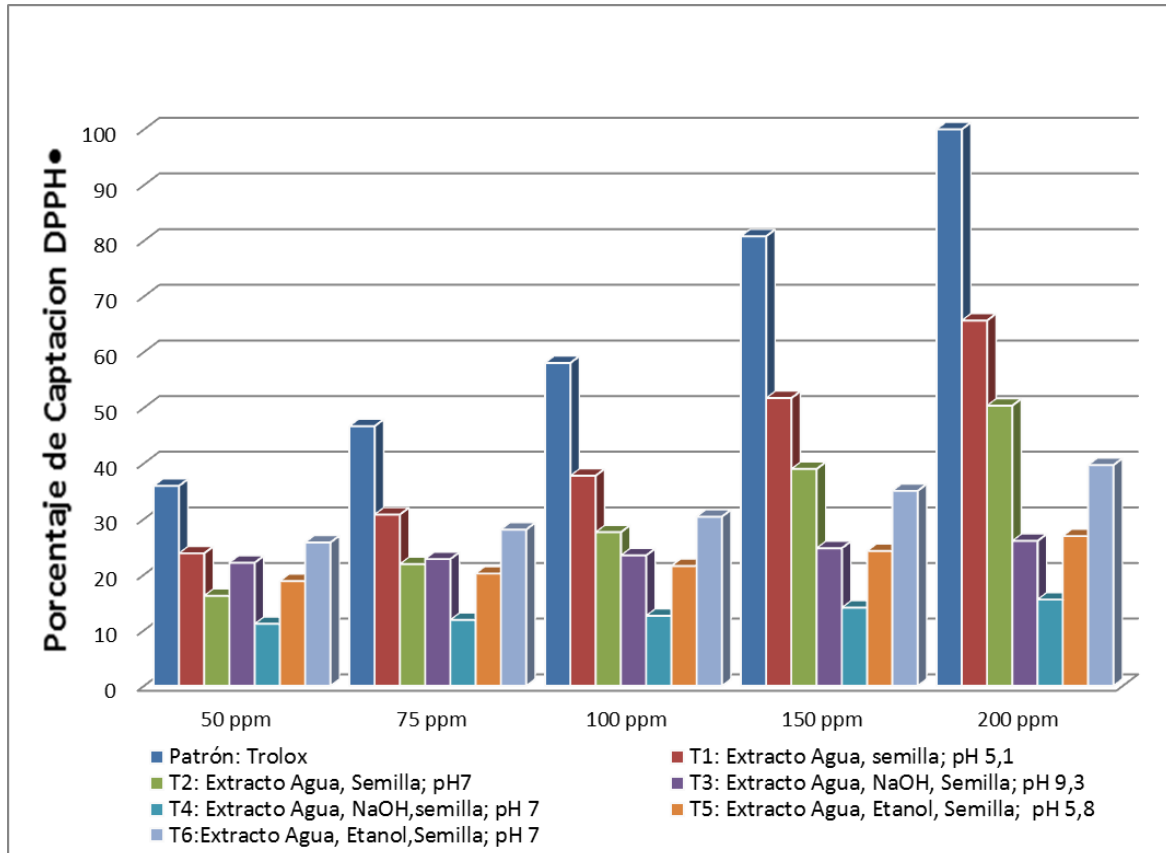
| Extracción con alcohol | Extracción con agua destilada | Extracción con Hidróxido de sodio |
|---|---|---|
|  |  |  |
| L* = 76,89, a* = 15,49 y b* = 66,74 | L* = 85,08, a* = 5,05 y b* = 50,25 | de L* = 0,15 , a* = 0,05 y b* = -0,44 |
| Rendimiento: 1,49% ± 0,005 | Rendimiento: 0,52 ± 0,041% | Rendimiento: 1,61% ± 0,02 |

Fuente: <http://www.workwithcolor.com>

2.1.2 Actividad antioxidante

En la tabla 2-3 se muestran los porcentajes de actividad antioxidante correspondiente a 7 tratamientos incluyendo la muestra de trolox que funcionó como patrón por su alto poder antioxidante. A través del modo de regresión lineal simple de Statgraphics, se pudo predecir mediante ecuaciones los valores del porcentaje de actividad antioxidante frente a determinadas concentraciones, los coeficientes de correlación indicaron una relación relativamente fuerte entre las variables. Los valores de P en las tablas de Anova fueron menores a 0,05, lo cual significa que existe una relación estadística significativa con un nivel de confianza del 95% (Anexo A, Anexo B, Anexo C, Anexo D, Anexo E y Anexo F)

Figura 2-1 Comparación de diferentes extractos de semilla de aguacate (*Persea Americana* Variedad Lorena), por el método decoloración del radical DPPH•



En un estudio de actividad antioxidante (Kang, Yun, & Lee, 2003), evaluaron extractos de hierbas medicinales con solventes polares como; butanol, metanol y agua, de lo cual se concluyó que solventes más polares contribuyen a incrementar la actividad antioxidante. Lo anterior se evidencia en el presente estudio puesto que en el tratamiento donde el solvente es solo agua la cual es polar se constata una alta actividad antioxidante, solo superada por el trolox, en lo relacionado al pH se evidencia que el extracto a pH 5,1 muestra mayor actividad antioxidante que la muestra neutralizada a pH 7. Nagaraj en el 2010, estudió la actividad antioxidante por DDPH de extractos de semilla de aguacate

tratados con metanol- agua (4:1) obtuvo que cuando usó como patrón ácido ascórbico con un porcentaje de inhibición de 82,3% el porcentaje de inhibición del extracto de la semilla fue de 60,8% , mientras que en la presente investigación se muestra que cuando el patrón Trolox llegó al 80,76%, el extracto acuoso registró 51,95%, esa diferencia se debe principalmente a los solventes empleados, con el metanol tratamiento usado por Nagaraj se evidencia un notable aumento de la actividad antioxidante, sin embargo para los fines de esta investigación no se usó metanol porque podría arrastrar trazas a la matriz del jabón líquido el cual es para uso doméstico y sería algo inapropiado.

La actividad antioxidante más baja se presentó en los tratamientos con hidróxido de sodio especialmente en el T4 donde la muestra fue neutralizada a pH 7, por ejemplo la muestra a una concentración de 150 ppm y pH 9,3 extraída con NaOH obtuvo 24,72 % de inhibición sin embargo con un pH de 7 un 14,03% de inhibición. En los tratamientos en el cual se usó agua como solvente encontramos también que a pH 7 el porcentaje de inhibición decrece en todas las concentraciones analizadas, de tal manera se encontró que a 150 ppm y pH 5,1 la inhibición fue de 51,69 % y a pH de 7 la inhibición alcanzó un 38,96%. De tal manera en los tratamientos con NaOH y solo agua, se observa menor actividad antioxidante en los extractos que fueron neutralizados a pH 7. A diferencia de lo anterior los tratamientos con mezcla de agua, etanol y semilla se evidencian un incremento de la actividad antioxidante cuando se neutraliza a pH 7. En el extracto de 150 ppm a pH 5,8 la inhibición es de 24,21 mientras que a pH 7 la inhibición es de 35,01%.

2.1.3 Actividad antimicrobiana

Ninguno de los tratamientos evaluados presento actividad antimicrobiana, frente a las cepas evaluadas a excepción del control con cloranfenicol; T1: 5000 ppm de extracto acuoso pH 5,4; T2: 5000 ppm extracto acuoso NaOH pH 8,2; T3: 5000 ppm, extracto agua-etanol pH 5,5; T4: Control, Cloranfenicol 10mg/mL.

Figura 2-2 Cepas en sus respectivos medios de cultivo, agar EMB, para *E. coli* (figura derecha) y agar Baird Parker para *Saphylococcus aureus* (figura izquierda)

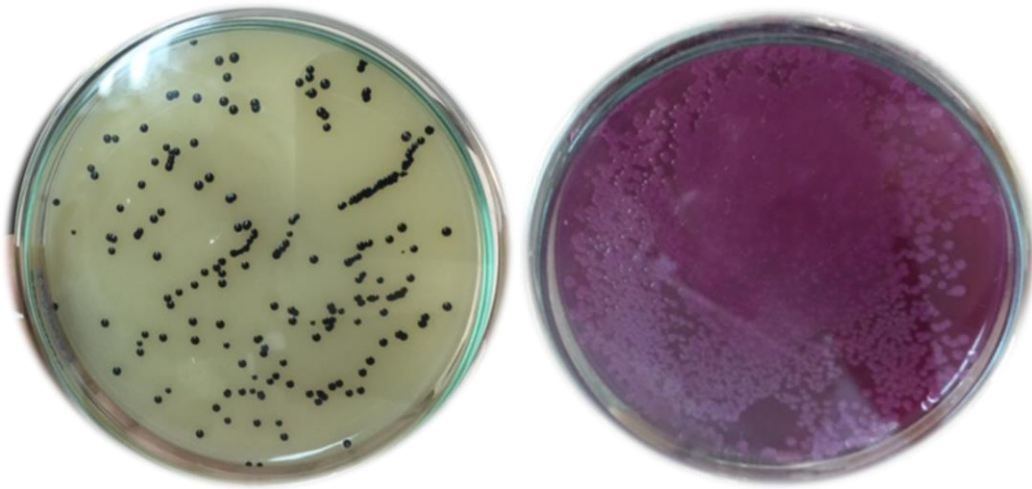


Figura 2-3 Ensayo biológico de diferentes extractos de semilla de aguacate frente a *Staphylococcus aureus* subsp ATCC 29213

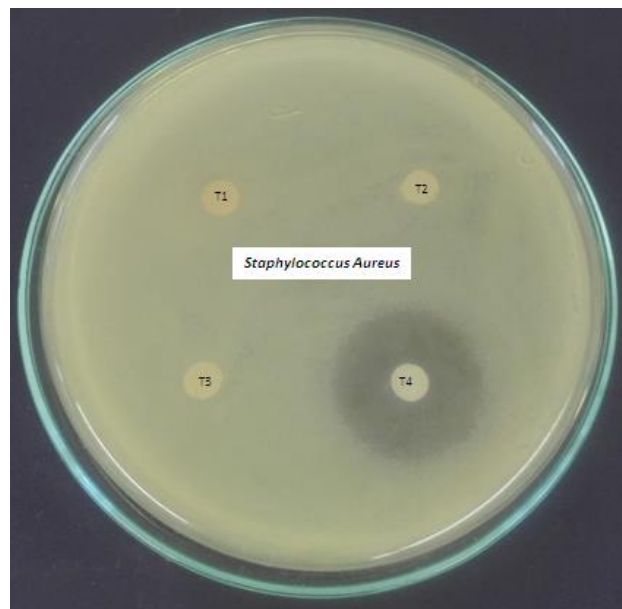
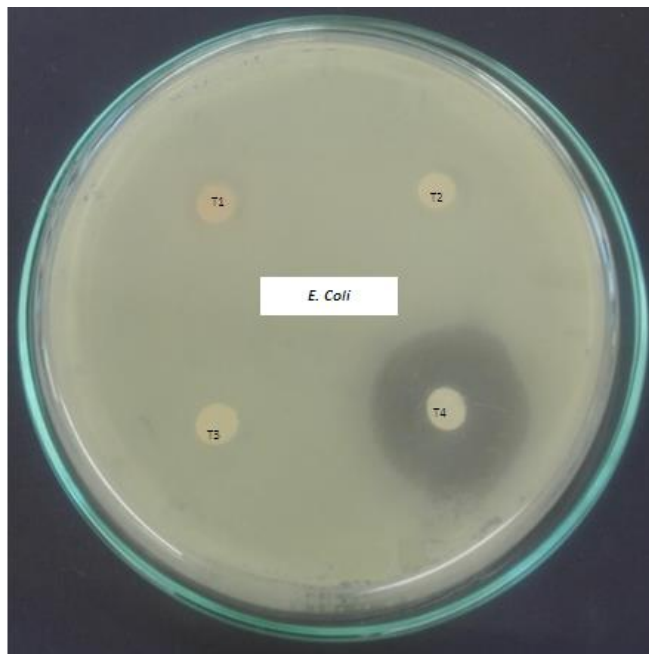


Figura 2-4 Ensayo biológico de diferentes extractos de semilla de aguacate frente a *Escherichia coli* ATCC 25922



Aunque la literatura reporta actividad antimicrobiana de extractos de la semilla de aguacate, (Nagaraj et al., 2010) y (Ayala-Zavala et al., 2011), es de recalcar que estos estudios trabajaron con extractos a los cuales se hizo fraccionamiento de terpenoides y demás compuestos bioactivos, puesto que la semilla de aguacate es una fuente de compuesto fitoquímicos con gran bioactividad (Dabas et al., 2013). Lo anterior coincide con Rios, 2005, el cual afirma que el aislamiento de compuestos activos debe realizarse a la luz de la actividad conocida de la planta y también seguir un aislamiento de posibles principios activos. La actividad antimicrobiana en esta investigación fue nula frente a *Escherichia coli* y *Saphylococcus aureus*, ninguno de los tratamientos usados fueron sometidos a algún tipo de aislamiento, se trabajó con los extractos crudos en estado líquido lo cual sugiere que es inadecuado el uso de estos tratamientos con fines antimicrobianos.

3 . CAPÍTULO 3: PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS Y PERFIL CROMATOGRÁFICO DEL ACEITE DE AGUACATE VARIEDAD HASS

3.1 Resultados y discusión

3.1.1 Características fisicoquímicas del aceite de aguacate

El rendimiento en el secado de la pulpa de aguacate fue de $47,41 \pm 1,22\%$, se obtuvo una pasta de textura rígida y de color verde oscuro. El porcentaje de rendimiento de extracción del aceite partir de pulpa deshidratada de aguacate fue de $71,26 \pm 1,25\%$.

Los parámetros fisicoquímicos se midieron por duplicado teniendo en cuenta la Norma Técnica Colombiana, NTC 258, el cual poseía una coloración verde oscura y con una textura un poco grumosa. Por lo anterior se procedió a realizar un filtrado del mismo para realizar las determinaciones pertinentes.

Tabla 3-1 Resultados de las características fisicoquímicas de diferentes tipos de aceite

| Parámetro de Calidad | Aceite de aguacate variedad Hass extraídos en este estudio. | Aceite extraído por soxhlet variedad Hass (Restrepo et al., 2012) | Aceite de oliva (Icontec NTC 258, 2011) |
|-----------------------------|--|--|--|
| Densidad Relativa | 0,875 | 0,874 | 0,91 |
| Humedad (%) | - | - | 0,2 – 0,3 |
| Índice de refracción | 1,4585 a 24,8 °C | - | 1,4677-1,4775 |
| Índice de acidez (%m/m) | 0,1046 | 1,68 | 3.30- 3.35 |

| | | | |
|---|--------|-------|---------|
| Índice de peróxidos (meq. de oxígeno peróxido/Kg) | 34,85 | 31,66 | Máx. 20 |
| Índice de yodo (cg I ₂ /g) | 177,52 | 77,85 | 75-94 |
| Índice de saponificación (mg KOH/g) | 190,74 | 175 | 184-196 |
| Rendimiento Soxhlet (%) | 71,26 | 85,5 | - |

Fuente: el autor.

Es de recalcar que no existe como tal una normativa en Colombia para aceites comestibles o de uso cosmético a partir de materiales vegetales no aptos para comercialización, por tanto para tener una referencia de como difieren estos valores frente a un aceite comercial se comparó con los parámetros establecidos con la NTC 258 referente para aceite de Oliva y con el estudio de Restrepo, 2012 el cual analizó un Aceite de aguacate variedad Hass extraído por soxhlet.

La densidad del aceite de aguacate variedad Hass, extraído por método soxhlet es similar a la obtenida por Restrepo, 2012, lo cual indica que la densidad de este aceite no se ve alterado por el estado de la materia prima inicial.

El índice de yodo es una medida del grado de insaturación de los componentes de una grasa, se puede observar que hay una clara diferencia entre lo que establece la normativa y el índice que se obtuvo, puesto que un valor de 177,52 cg I₂/g revela que el aceite obtenido tiene un alto grado de insaturaciones. La presencia de insaturaciones en los aceites es debido a los mecanismos propios de la planta para fijar dobles enlaces, siendo el principal precursor de nuevos ácidos grasos la coenzima acetyl-CoA como afirma (Restrepo et al., 2012).

El índice de peróxido mide la oxidación del aceite fresco o el grado de rancidez en el momento de la prueba (Lafont & Portacio, 2011). Un valor de 38,45 meq. de oxígeno peróxido/Kg refleja un alto grado de rancidez, similarmente (Restrepo et al., 2012) en un estudio por este mismo método de extracción de aceite de aguacate variedad Hass reportó 31,66 meq. de oxígeno peróxido/Kg. Sin embargo hay que anotar que se trabajó con aguacates no aptos para comercialización con un estado avanzado de oxidación. Si se compara con un aceite para consumo humano como el de oliva el límite máximo permitido es 20 meq de oxígeno peróxido/Kg. Este valor tan alto se debe posiblemente al tratamiento térmico prolongado al que se sometió la pulpa de aguacate en el secado y al estado inicial de la materia prima (ver figura 1-6).

El índice de saponificación para el aceite es de 190,74 mgKOH/g siendo mayor a 175 mgKOH/g reportado por el estudio de Restrepo, 2012. Lo que indica mayor presencia de ácidos grasos de bajo peso molecular debido a que los ésteres de estos ácidos grasos requieren mayor cantidad de KOH para la saponificación haciéndolo mucho más oloroso (Lafont & Portacio, 2011). La industria de jabones y cosméticos exige un valor mínimo de 185mgKOH/g (Lafont & Portacio, 2011) lo cual sugiere que un aceite de este tipo puede usarse en dicho tipo de industrias.

3.1.2 Determinación del perfil cromatográfico de ácidos grasos

La muestra se analizó por triplicado, a cada réplica se le realizaron 2 inyecciones. En la tabla 3-2 se muestra el resultado promedio de los análisis con su respectiva desviación estándar.

Tabla 3-2 Resultados del perfil cromatográfico del aceite de aguacate Hass

| Métil éster | Composición porcentual promedio para aceite de aguacate variedad Hass extraídos en este estudio. | Composición porcentual promedio de aceite extraído por soxhlet variedad Hass (Acosta, 2011) |
|--------------------------|---|--|
| Laureato | 0.02± 0,00 | - |
| Miristato | 0.04± 0,00 | - |
| Palmitato | 19.02± 0,02 | 16,49 |
| Docoxahexaenoico (Poli)= | 0.02± 0,00 | - |
| Linoleico | 7.76± 0,29 | 11,13 |
| Linolénico+Oleico | 57.33± 0,32 | 59,1 |
| Estearato | 5.25± 0,04 | 1,91 |

Acosta, 2011 reportó diferentes ácidos grasos en aceite de aguacate variedad Hass; en % de ácido palmítico 16,49; en % de Linoleico 11,13; en % de esteárico 0,40.

La sumatoria porcentual entre los ácidos grasos oleico y linoleico, es $57,33 \pm 0,33\%$ similar al 59,1% reportado por Acosta, 2011.

Los ácidos grasos saturados palmitato y estearato fue de 24,27 % comparados con lo reportado por Acosta, 2011, de 16,99 % la diferencia es notable esto se debe principalmente a la calidad de la materia prima inicial que se trabajó, en cuanto al aceite de oliva comercial posee un promedio de ácidos grasos saturados de 34,12% lo que indica que el aceite extraído posee un porcentaje bajo de grasas saturadas, este tipo de aceite en cuanto al contenido de ácidos grasos saturados es mejor que el de oliva lo cual es importante para la industria alimentaria puesto que la Organización Mundial de la

Salud (OMS), sugiere el consumo de sustancias grasas con bajo contenido de ácidos grasos saturados con el fin de reducir enfermedades cardiovasculares y problemas de obesidad. (Rodríguez-Carpena, Morcuende, & Estévez, 2012)

Los valores anteriores indican que el aceite evaluado a pesar de ser obtenido de aguacates no aptos para consumo, tiene un significativo valor de ácidos grasos insaturados principalmente oleico, lo cual favorece sus características nutracéuticos y cosméticas.

4 . CAPÍTULO 4: EVALUACIÓN DEL COLOR, pH Y DE LOS PRINCIPALES PARÁMETROS ESTABLECIDOS POR LA NORMATIVA VIGENTE NTC 709 EN LA MATRIZ TIPO JABÓN LÍQUIDO

4.1 Resultados y discusión

4.1.1 Evaluación del color y pH en el jabón líquido

Se agregó al jabón líquido el colorante obtenido a partir de la extracción con hidróxido de sodio por haber sido el de mayor rendimiento y el de mayores características tintóreas según los parámetro L^* , a^* y b^* , lo anterior se constata en el capítulo 2. Se evaluó el comportamiento del color a diferentes concentraciones del colorante (1%, 2% y 3%), se realizó la evaluación del color durante un periodo de 1 mes de almacenamiento expuesto a condiciones ambientales. En la tabla 4-1 se presenta los resultados frente a los parámetros de color y pH, los valores de L^* , a^* y b^* se midieron en un colorímetro Konica Minolta Cr-5 por triplicado con una variación estándar de 0 para todos los casos.

Tabla 4-1 Evaluación del color y pH en el jabón líquido durante 30 días

| Tipo de Jabón Líquido | Parámetros de color y pH | | | | | |
|-----------------------------------|--------------------------|-------|-------|-------|------------|------|
| | L^* | a^* | b^* | c | ΔE | pH |
| Día 1; Jabón con colorante al 1% | 79,8 | 9,2 | 41,51 | 42,52 | 0 | 6,2 |
| Día 10; Jabón con colorante al 1% | 79,59 | 9,54 | 40,51 | 41,62 | 1,08 | 6,2 |
| Día 20; Jabón con colorante al 1% | 79,14 | 9,37 | 40,08 | 41,16 | 0,65 | 6,21 |
| Día 30; Jabón con colorante al 1% | 79,04 | 9,16 | 39,54 | 40,59 | 1,18 | 6,26 |
| | | | | | | |
| Día 1; Jabón con colorante al 2% | 70,23 | 17,95 | 53,92 | 56,83 | 0 | 6,2 |
| Día 10; Jabón con colorante al 2% | 70,78 | 17,91 | 54,33 | 57,21 | 0,69 | 6,2 |
| Día 20; Jabón con colorante al 2% | 70,56 | 17,68 | 53,92 | 56,74 | 0,52 | 6,2 |
| Día 30; Jabón con colorante al 2% | 70,44 | 17,3 | 53,36 | 56,09 | 0,69 | 6,24 |

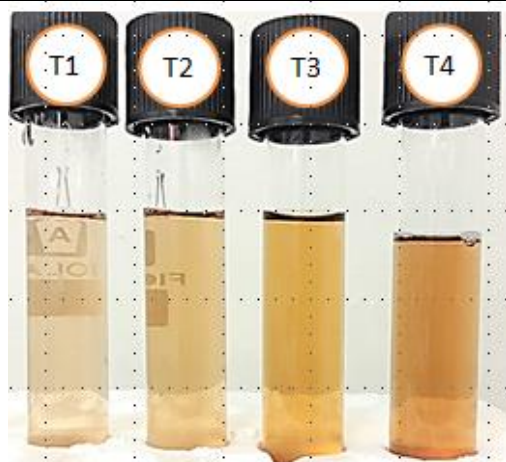
| | | | | | | |
|---|-------|-------|-------|-------|------|------|
| Día 1; Jabón con colorante al 3% | 54,21 | 33,23 | 68,07 | 75,75 | 0 | 6,2 |
| Día 10; Jabón con colorante al 3% | 55,35 | 33,27 | 68,87 | 76,49 | 1,39 | 6,2 |
| Día 20; Jabón con colorante al 3% | 54,8 | 32,67 | 67,78 | 75,24 | 1,36 | 6,2 |
| Día 30; Jabón con colorante al 3% | 55,03 | 31,69 | 67,9 | 74,93 | 1,01 | 6,24 |
| Día 1; Jabón colorante al 2% +aceite de aguacate al 2% | 73,9 | 15,2 | 57,2 | 59,19 | 0 | 6,2 |
| Día 10; Jabón colorante al 2% +aceite de aguacate al 2% | 72,83 | 15,2 | 56,47 | 58,48 | 1,3 | 6,2 |
| Día 20; Jabón colorante al 2% +aceite de aguacate al 2% | 72,85 | 14,16 | 55,47 | 57,25 | 1,44 | 6,21 |
| Día 30; Jabón colorante al 2% +aceite de aguacate al 2% | 73,07 | 13,96 | 54,95 | 56,7 | 0,6 | 6,21 |

De acuerdo a Obón, 2009, se puede concluir que la diferencia de color en todos los tratamientos pueden considerarse pequeñas y casi imperceptibles a una observación visual, debido a que los valores ΔE son inferiores a 1,5, es decir que color brindado a diferentes concentraciones de la extracción con solución acuosa de NaOH y semilla de aguacate es estable, de igual manera el cambio de pH no se ve afectado a través del tiempo. De acuerdo a las coordenadas Cielab se obtuvo que el colorante tiene una tendencia hacia el amarillo lo cual está ligado a la concentración del colorante, esto se refleja en la coordenada b^* (donde un número positivo indica amarillo y un número negativo indica azul) puesto que cuando aumenta la concentración de 1% a 3%, se incrementa el valor de b^* desde 41,51 hasta 68,07 respectivamente, tal como se evidencia en la muestra del día 1 que corresponde a jabón con colorante al 1%, el valor de b^* fue 41,51; la muestra del día 1 de jabón pero con colorante al 2% el valor de b^* reportó 53,92 y la muestra del día 1 de Jabón pero con colorante al 3% alcanzó un valor de b^* 68,07. En cuanto a la coordenada a^* (donde un número positivo indica rojo y un número negativo indica verde), se observó una leve tendencia hacia la gama de los rojos lo cual también está íntimamente relacionado a la concentración puesto que a medida que aumenta la concentración de colorante de 1% a 3% se incrementa el valor de a^* desde 9,2 hasta 33,23 tomando como referencia la muestra de los días 1. Sin embargo el valor L^* (donde un número de 0 – 50 indica negro u oscuridad y de 51 -100 indica

blanco o claridad), a medida que aumentó la concentración de 1% a 3%, el valor de L^* descendió de 79,8 hasta 54,21 en las muestras de los días 1.

En este orden de ideas el colorante extraído con NaOH a partir de la semilla de aguacate variedad Lorena, es completamente estable en una matriz de jabón líquido con un pH de 6,2 durante un mes de almacenamiento, de igual manera la formulación que contiene aceite de aguacate al 2% se mantiene estable en color y pH durante un mes de almacenamiento.

Figura 4-1 Muestras de jabón líquido con el colorante de la semilla de aguacate



T1: Jabón con colorante al 1%

T2: Jabón con colorante al 2%

T3: Jabón con colorante al 3%

T4: Jabón colorante al 2% +aceite de aguacate al 2%

Fuente: El autor

4.1.2 Evaluación del jabón líquido frente a la NTC 709

Se analizó dos muestras del jabón líquido frente a los requisitos establecidos en la NTC 709, esto se refleja en la Tabla 4-2.

Tabla 4-2 Comparación de los requisitos establecidos por la NTC 709 frente a los jabones diseñados en este estudio.

| Requisitos | Porcentaje en masa establecido por la Normativa | Jabón con la adición de aceite de aguacate en este estudio | Jabón sin adicionar Cloruro de Sodio en este estudio |
|---|---|--|--|
| Jabón anhidro, expresado como potásico, mínimo | 15 | 2,52% | 1,93% |
| Cloruros, Expresado en Cloruro de potasio (KCl), máximo | 0,2 | 12,045% en Cloruro de Sodio | 1,475% Cloruro de Sodio |
| Materia insoluble en agua, máximo | 0,1 | 0,3825 % | 0,185 % |
| Acidez libre | 0 | 1,13% expresado como ácido oleico | 0,98 % expresado como ácido oleico |

El requisito en cuanto al contenido en cloruros donde máximo se acepta 0,2 %, evidencia que incluso el jabón al cual no se le agregó cloruro de sodio no cumple puesto que reportó 1,47%, esto indica que los ingredientes adicionados están aportando naturalmente cloruros por fuera de los límites establecidos, sin embargo las fichas técnicas para el manejo de Texapón o Lauril éter sulfato de sodio sugiere la adición de cloruro de sodio para aumentar la viscosidad del producto final. (Díaz & Villafuerte, 2012)

Se obtuvo que ninguno de los dos jabones formulados en el presente estudio cumplen con lo establecido en la NTC 709, lo cual si se compara con los jabones líquidos que realizaron, Ortiz (2016), Cuca (2012) y Patel (2005) en donde los ingredientes que usaron son similares a los esta investigación plantea serias dudas sobre el cumplimiento de la NTC 709, puesto que con los ingredientes formulados no se logra el cumplimiento de estos parámetros, puede existir una confusión con el etiquetado en cuanto a la denominación “jabón líquido” que realizan las empresas productoras que ofrecen este

tipo de producto en Colombia y en vez de esto se estaría ofertando un producto con características más parecidas a un detergente líquido. Sin embargo las formulaciones con el colorante y la de aceite de aguacate usadas son estables bien sea si la denominación que se use sea jabón líquido o detergente líquido, esto queda demostrado puesto que el colorante mantiene en el producto su fuerza tintórea por mínimo un mes y además aporta características antioxidantes al producto. Con la incorporación de estos componentes de alto valor biológico se consiguen productos más amigables con el medio ambiente.

5 . CONCLUSIONES

A través de la presente investigación se logró demostrar la obtención de dos bioproductos a partir de los residuos generados en la agroindustria del aguacate, lo cual es de vital importancia en medio de la crisis ambiental que vivimos, puesto que se obtuvo un colorante natural a partir de la semilla de aguacate variedad Lorena con un rendimiento de $1,61\% \pm 0,02$ expresado en peso volumen y un aceite a partir de mesocarpios residuales de aguacate variedad Hass, con un rendimiento de extracción de $71,26\% \pm 1,25$ a través de método soxhlet con características humectantes para la piel.

Se evaluó los rendimientos de extracción en porcentaje de sólidos totales con tres tipos de solventes para la obtención de un colorante a partir de la semilla de aguacate variedad Lorena, se obtuvo el mejor resultado con una solución de hidróxido de sodio y además esta presentó mejores características tintóreas en el espacio de color CieLab. $L^* = 0,15$, $a^* = 0,05$ y $b^* = -0,44$,

Los extractos evaluados a partir de la semilla de aguacate variedad Lorena con soluciones de hidróxido de sodio, alcohol etílico y solo agua, no presentan actividad antimicrobiana frente a cepas de *Staphylococcus aureus subsp ATCC 29213* y *Escherichia coli ATCC 25922*.

A partir del extracto de la semilla de aguacate de la variedad Lorena obtenido con una solución de hidróxido de sodio, se obtuvo un extracto tipo colorante con características colorantes y antioxidantes, el cual puede ser usado en una matriz tipo jabón líquido como sustituto de los colorantes artificiales en este tipo de productos, además este colorante es capaz de brindar distintas gamas de colores dependiendo la concentración a la cual sea usado y es estable a un pH de 6,2 como mínimo durante un mes.

Fueron determinadas las características fisicoquímicas y el perfil de ácidos grasos por cromatografía de gases del aceite de aguacate Hass extraído a partir de mesocarpios residuales catalogado como no aptos para comercialización en fresco de acuerdo a la

NTC 5209, los parámetros obtenidos se compararon de acuerdo a la normatividad vigente en Colombia para aceite de oliva NTC 258 y frente a los valores reportados por Restrepo (2012) y Acosta (2011) en cuanto a la composición de ácidos grasos referente a; palmitato, linoleico, linolénico, oleico, estearato y parámetros fisicoquímicos como; índice de yodo, índice de acidez, índice de saponificación, índice de peróxido y densidad.

El índice de yodo revela que el aceite obtenido tiene un alto grado de insaturaciones frente al rango que establece la normativa, lo cual se constata con el alto valor de ácidos grasos insaturados que se obtuvo $57.33\% \pm 0,32$ de linolénico y oleico. El índice de saponificación es más alto frente a los reportados lo que indica que tiene altas oportunidad la industria de jabones y cosméticos, bien sea por sus propiedades humectantes o saponificantes.

Las formulaciones evaluadas no cumplieron totalmente con los requisitos establecidos en la NTC 709 para jabón líquido, específicamente en el valor de jabón anhidro potásico el cual debe ser de 15% y en la formulación con cloruro de sodio reportó 2,52% y la formulación sin cloruro de sodio 1,93% por tanto se debe reformular el producto o estudiar la aplicabilidad de la norma en este producto.

6 . RECOMENDACIONES

Se debe evaluar un jabón líquido que se comercialice en Colombia en cuanto a los parámetros que establece la NTC 709 (jabón anhidro expresado como potásico, cloruros expresado en cloruro de potasio, materia insoluble en agua, acidez libre, álcali libre), para aclarar si la industria de jabones líquidos cumple con la normativa, puesto que la formulación que se trabajó en la presente investigación fue similar a un jabón líquido comercial y no se logró cumplir a cabalidad con los parámetros establecidos.

Es necesario evaluar la biodegradabilidad de las formulaciones del jabón líquido para determinar el comportamiento de los bioproductos aplicados en esta matriz y de esta manera garantizar un producto más amigable con el medio ambiente.

Anexos

Anexo A. Regresión Simple - Actividad Antioxidante trolox vs ppm de Trolox

Variable dependiente: Col_2 (A Antioxidante trolox)

Variable independiente: Col_1 (ppm de Trolox)

Lineal: $Y = a + b \cdot X$

Coeficientes

| | <i>Mínimos Cuadrados</i> | <i>Estándar</i> | <i>Estadístico</i> | |
|------------------|--------------------------|-----------------|--------------------|----------------|
| <i>Parámetro</i> | <i>Estimado</i> | <i>Error</i> | <i>T</i> | <i>Valor-P</i> |
| Intercepto | 12,542 | 3,21453 | 3,90167 | 0,0080 |
| Pendiente | 0,454843 | 0,0254628 | 17,863 | 0,0000 |

Análisis de Varianza

| <i>Fuente</i> | <i>Suma de Cuadrados</i> | <i>Gl</i> | <i>Cuadrado Medio</i> | <i>Razón-F</i> | <i>Valor-P</i> |
|---------------|--------------------------|-----------|-----------------------|----------------|----------------|
| Modelo | 5430,66 | 1 | 5430,66 | 319,09 | 0,0000 |
| Residuo | 102,116 | 6 | 17,0194 | | |
| Total (Corr.) | 5532,78 | 7 | | | |

Coefficiente de Correlación = 0,990729

R-cuadrada = 98,1543 por ciento

R-cuadrado (ajustado para g.l.) = 97,8467 por ciento

Error estándar del est. = 4,12545

Error absoluto medio = 2,91542

Estadístico Durbin-Watson = 1,45331 (P=0,0792)

Autocorrelación de residuos en retraso 1 = 0,0115042

El StatAdvisor

La salida muestra los resultados de ajustar un modelo lineal para describir la relación entre Col_2 y Col_1. La ecuación del modelo ajustado es

$$\text{Col}_2 = 12,542 + 0,454843 \cdot \text{Col}_1$$

Puesto que el valor-P en la tabla ANOVA es menor que 0,05, existe una relación estadísticamente significativa entre Col_2 y Col_1 con un nivel de confianza del 95,0%.

El estadístico R-Cuadrada indica que el modelo ajustado explica 98,1543% de la variabilidad en Col_2. El coeficiente de correlación es igual a 0,990729, indicando una relación relativamente fuerte entre las variables. El error estándar del estimado indica que la desviación estándar de los residuos es 4,12545. Este valor puede usarse para construir límites de predicción para nuevas observaciones, seleccionando la opción de Pronósticos del menú de texto.

El error absoluto medio (MAE) de 2,91542 es el valor promedio de los residuos. El estadístico de Durbin-Watson (DW) examina los residuos para determinar si hay alguna correlación significativa basada en el orden en el que se presentan en el archivo de datos. Puesto que el valor-P es mayor que 0,05, no hay indicación de una autocorrelación serial en los residuos con un nivel de confianza del 95,0%.

Valores Predichos

| | | 95,00% | | 95,00% | |
|-------|--------------|----------|------------|----------|-----------|
| | Predicciones | Límite | Predicción | Límite | Confianza |
| X | Y | Inferior | Superior | Inferior | Superior |
| 25,0 | 23,9131 | 11,8981 | 35,9281 | 17,397 | 30,4292 |
| 50,0 | 35,2842 | 23,891 | 46,6773 | 30,002 | 40,5664 |
| 75,0 | 46,6553 | 35,6963 | 57,6142 | 42,3895 | 50,921 |
| 100,0 | 58,0263 | 47,2911 | 68,7616 | 54,3734 | 61,6793 |
| 150,0 | 80,7685 | 69,8096 | 91,7275 | 76,5027 | 85,0343 |
| 200,0 | 103,511 | 91,4956 | 115,526 | 96,9946 | 110,027 |
| 250,0 | 126,253 | 112,54 | 139,965 | 116,972 | 135,534 |

El StatAdvisor

Esta tabla muestra los valores predichos para Col_2 usando el modelo ajustado. Además de las mejores predicciones, la tabla muestra:

- (1) intervalos de previsión del 95,0% para las nuevas observaciones
- (2) intervalos de confianza del 95,0% para la media de varias observaciones

Los intervalos de predicción y de confianza corresponden a las cotas internas y externas en la gráfica del modelo ajustado.

Anexo B. Regresión Simple Actividad Antioxidante Agua semilla pH 5,1 vs. Concentración en ppm de agua-semilla pH 5,1

Variable dependiente: Col_4 (A Antioxidante Agua semilla pH 5,1)

Variable independiente: Col_3 (ppm agua-semilla pH 5,1)

Lineal: $Y = a + b \cdot X$

Coeficientes

| | Mínimos Cuadrados | Estándar | Estadístico | |
|------------|-------------------|-----------|-------------|---------|
| Parámetro | Estimado | Error | T | Valor-P |
| Intercepto | 9,85934 | 2,81881 | 3,4977 | 0,0173 |
| Pendiente | 0,278914 | 0,0213359 | 13,0725 | 0,0000 |

Análisis de Varianza

| <i>Fuente</i> | <i>Suma de Cuadrados</i> | <i>Gl</i> | <i>Cuadrado Medio</i> | <i>Razón-F</i> | <i>Valor-P</i> |
|---------------|--------------------------|-----------|-----------------------|----------------|----------------|
| Modelo | 2958,5 | 1 | 2958,5 | 170,89 | 0,0000 |
| Residuo | 86,5614 | 5 | 17,3123 | | |
| Total (Corr.) | 3045,06 | 6 | | | |

Coefficiente de Correlación = 0,985684

R-cuadrada = 97,1573 por ciento

R-cuadrado (ajustado para g.l.) = 96,5888 por ciento

Error estándar del est. = 4,1608

Error absoluto medio = 2,82609

Estadístico Durbin-Watson = 1,57948 (P=0,1132)

Autocorrelación de residuos en retraso 1 = 0,00596748

El StatAdvisor

La salida muestra los resultados de ajustar un modelo lineal para describir la relación entre Col_4 y Col_3. La ecuación del modelo ajustado es

$$\text{Col}_4 = 9,85934 + 0,278914 * \text{Col}_3$$

Puesto que el valor-P en la tabla ANOVA es menor que 0,05, existe una relación estadísticamente significativa entre Col_4 y Col_3 con un nivel de confianza del 95,0%.

El estadístico R-Cuadrada indica que el modelo ajustado explica 97,1573% de la variabilidad en Col_4. El coeficiente de correlación es igual a 0,985684, indicando una relación relativamente fuerte entre las variables. El error estándar del estimado indica que la desviación estándar de los residuos es 4,1608. Este valor puede usarse para construir límites de predicción para nuevas observaciones, seleccionando la opción de Pronósticos del menú de texto.

El error absoluto medio (MAE) de 2,82609 es el valor promedio de los residuos. El estadístico de Durbin-Watson (DW) examina los residuos para determinar si hay alguna correlación significativa basada en el orden en el que se presentan en el archivo de datos. Puesto que el valor-P es mayor que 0,05, no hay indicación de una autocorrelación serial en los residuos con un nivel de confianza del 95,0%.

Valores Predichos

| | | 95,00% | | 95,00% | |
|-------|---------------------|------------------------|----------------------------|------------------------|---------------------------|
| | <i>Predicciones</i> | <i>Límite Inferior</i> | <i>Predicción Superior</i> | <i>Límite Inferior</i> | <i>Confianza Superior</i> |
| X | Y | | | | |
| 25,0 | 23,9131 | 11,8981 | 35,9281 | 17,397 | 30,4292 |
| 50,0 | 35,2842 | 23,891 | 46,6773 | 30,002 | 40,5664 |
| 75,0 | 46,6553 | 35,6963 | 57,6142 | 42,3895 | 50,921 |
| 100,0 | 58,0263 | 47,2911 | 68,7616 | 54,3734 | 61,6793 |
| 150,0 | 80,7685 | 69,8096 | 91,7275 | 76,5027 | 85,0343 |
| 200,0 | 103,511 | 91,4956 | 115,526 | 96,9946 | 110,027 |
| 250,0 | 126,253 | 112,54 | 139,965 | 116,972 | 135,534 |

El StatAdvisor

Esta tabla muestra los valores predichos para Col_2 usando el modelo ajustado. Además de las mejores predicciones, la tabla muestra:

- (1) intervalos de previsión del 95,0% para las nuevas observaciones
- (2) intervalos de confianza del 95,0% para la media de varias observaciones

Los intervalos de predicción y de confianza corresponden a las cotas internas y externas en la gráfica del modelo ajustado.

Anexo C. Regresión Simple Actividad Antioxidante NaOH semilla pH 9,3 vs. ppm NaOH Semilla pH 9,3.

Variable dependiente: Col_6 (A A NaOH semilla pH 9,3)

Variable independiente: Col_5 (ppm NaOH Semilla pH 9,3)

Lineal: $Y = a + b \cdot X$

Coeficientes

| | <i>Mínimos Cuadrados</i> | <i>Estándar</i> | <i>Estadístico</i> | |
|------------------|--------------------------|-----------------|--------------------|----------------|
| <i>Parámetro</i> | <i>Estimado</i> | <i>Error</i> | <i>T</i> | <i>Valor-P</i> |
| Intercepto | 20,8233 | 2,9457 | 7,06906 | 0,0021 |
| Pendiente | 0,0260173 | 0,00390596 | 6,66093 | 0,0026 |

Análisis de Varianza

| <i>Fuente</i> | <i>Suma de Cuadrados</i> | <i>Gl</i> | <i>Cuadrado Medio</i> | <i>Razón-F</i> | <i>Valor-P</i> |
|---------------|--------------------------|-----------|-----------------------|----------------|----------------|
| Modelo | 1190,5 | 1 | 1190,5 | 44,37 | 0,0026 |
| Residuo | 107,329 | 4 | 26,8324 | | |
| Total (Corr.) | 1297,83 | 5 | | | |

Coefficiente de Correlación = 0,957758

R-cuadrada = 91,7301 por ciento

R-cuadrado (ajustado para g.l.) = 89,6626 por ciento

Error estándar del est. = 5,18

Error absoluto medio = 3,86506

Estadístico Durbin-Watson = 1,55249 (P=0,1040)

Autocorrelación de residuos en retraso 1 = 0,0830899

El StatAdvisor

La salida muestra los resultados de ajustar un modelo lineal para describir la relación entre Col_6 y Col_5. La ecuación del modelo ajustado es

$$\text{Col}_6 = 20,8233 + 0,0260173 \cdot \text{Col}_5$$

Puesto que el valor-P en la tabla ANOVA es menor que 0,05, existe una relación estadísticamente significativa entre Col_6 y Col_5 con un nivel de confianza del 95,0%.

El estadístico R-Cuadrada indica que el modelo ajustado explica 91,7301% de la variabilidad en Col_6. El coeficiente de correlación es igual a 0,957758, indicando una relación relativamente fuerte entre las variables. El error estándar del estimado indica que la desviación estándar de los residuos es 5,18. Este valor puede usarse para construir límites de predicción para nuevas observaciones, seleccionando la opción de Pronósticos del menú de texto.

El error absoluto medio (MAE) de 3,86506 es el valor promedio de los residuos. El estadístico de Durbin-Watson (DW) examina los residuos para determinar si hay alguna correlación significativa basada en el orden en el que se presentan en el archivo de datos. Puesto que el valor-P es mayor que 0,05, no hay indicación de una autocorrelación serial en los residuos con un nivel de confianza del 95,0%.

Valores Predichos

| | | 95,00% | | 95,00% | |
|-------|--------------|----------|------------|----------|-----------|
| | Predicciones | Límite | Predicción | Límite | Confianza |
| X | Y | Inferior | Superior | Inferior | Superior |
| 50,0 | 22,1242 | 5,758 | 38,4903 | 14,3133 | 29,935 |
| 75,0 | 22,7746 | 6,49173 | 39,0575 | 15,1399 | 30,4093 |
| 100,0 | 23,425 | 7,22136 | 39,6287 | 15,9607 | 30,8894 |
| 150,0 | 24,7259 | 8,66804 | 40,7838 | 17,5836 | 31,8682 |
| 200,0 | 26,0268 | 10,0976 | 41,9559 | 19,1787 | 32,8748 |
| 250,0 | 27,3276 | 11,5096 | 43,1457 | 20,7422 | 33,9131 |

El StatAdvisor

Esta tabla muestra los valores predichos para Col_6 usando el modelo ajustado. Además de las mejores predicciones, la tabla muestra:

- (1) intervalos de previsión del 95,0% para las nuevas observaciones
- (2) intervalos de confianza del 95,0% para la media de varias observaciones

Los intervalos de predicción y de confianza corresponden a las cotas internas y externas en la gráfica del modelo ajustado.

Anexo D. Regresión Simple Actividad Antioxidante NaOH p H7 vs ppm NaOH pH 7

Variable dependiente: Col_10 (A Antioxidante NaOH p H7)

Variable independiente: Col_9 (ppm NaOH pH 7)

Lineal: $Y = a + b \cdot X$

Coefficientes

| | Mínimos Cuadrados | Estándar | Estadístico | |
|------------|-------------------|------------|-------------|---------|
| Parámetro | Estimado | Error | T | Valor-P |
| Intercepto | 9,66759 | 1,88337 | 5,13313 | 0,0068 |
| Pendiente | 0,029141 | 0,00249733 | 11,6689 | 0,0003 |

Análisis de Varianza

| Fuente | Suma de Cuadrados | Gl | Cuadrado Medio | Razón-F | Valor-P |
|---------------|-------------------|----|----------------|---------|---------|
| Modelo | 1493,53 | 1 | 1493,53 | 136,16 | 0,0003 |
| Residuo | 43,8748 | 4 | 10,9687 | | |
| Total (Corr.) | 1537,41 | 5 | | | |

Coefficiente de Correlación = 0,985628

R-cuadrada = 97,1462 por ciento
 R-cuadrado (ajustado para g.l.) = 96,4327 por ciento
 Error estándar del est. = 3,3119
 Error absoluto medio = 2,47938
 Estadístico Durbin-Watson = 1,33629 (P=0,0552)
 Autocorrelación de residuos en retraso 1 = 0,194159

El StatAdvisor

La salida muestra los resultados de ajustar un modelo lineal para describir la relación entre Col_10 y Col_9. La ecuación del modelo ajustado es

$$\text{Col}_{10} = 9,66759 + 0,029141 * \text{Col}_9$$

Puesto que el valor-P en la tabla ANOVA es menor que 0,05, existe una relación estadísticamente significativa entre Col_10 y Col_9 con un nivel de confianza del 95,0%.

El estadístico R-Cuadrada indica que el modelo ajustado explica 97,1462% de la variabilidad en Col_10. El coeficiente de correlación es igual a 0,985628, indicando una relación relativamente fuerte entre las variables. El error estándar del estimado indica que la desviación estándar de los residuos es 3,3119. Este valor puede usarse para construir límites de predicción para nuevas observaciones, seleccionando la opción de Pronósticos del menú de texto.

El error absoluto medio (MAE) de 2,47938 es el valor promedio de los residuos. El estadístico de Durbin-Watson (DW) examina los residuos para determinar si hay alguna correlación significativa basada en el orden en el que se presentan en el archivo de datos. Puesto que el valor-P es mayor que 0,05, no hay indicación de una autocorrelación serial en los residuos con un nivel de confianza del 95,0%.

Valores Predichos

| | | 95,00% | | 95,00% | |
|-------|--------------|----------|------------|----------|-----------|
| | Predicciones | Límite | Predicción | Límite | Confianza |
| X | Y | Inferior | Superior | Inferior | Superior |
| 50,0 | 11,1246 | 0,660703 | 21,5886 | 6,13068 | 16,1186 |
| 75,0 | 11,8532 | 1,44249 | 22,2638 | 6,97179 | 16,7345 |
| 100,0 | 12,5817 | 2,22165 | 22,9417 | 7,80925 | 17,3541 |
| 150,0 | 14,0387 | 3,77193 | 24,3056 | 9,47222 | 18,6053 |
| 200,0 | 15,4958 | 5,31126 | 25,6803 | 11,1174 | 19,8742 |
| 250,0 | 16,9529 | 6,83937 | 27,0663 | 12,7424 | 21,1633 |

El StatAdvisor

Esta tabla muestra los valores predichos para Col_10 usando el modelo ajustado. Además de las mejores predicciones, la tabla muestra:

- (1) intervalos de previsión del 95,0% para las nuevas observaciones
- (2) intervalos de confianza del 95,0% para la media de varias observaciones

Los intervalos de predicción y de confianza corresponden a las cotas internas y externas en la gráfica del modelo ajustado.

Anexo E. Regresión Simple Actividad antioxidante extracto en agua pH 7 vs Concentración en ppm extracto en agua pH

Variable dependiente: Col_8 (A A agua pH7)

Variable independiente: 12,5 (ppm Agua ph 7)

Lineal: $Y = a + b \cdot X$

Coefficientes

| | <i>Mínimos Cuadrados</i> | <i>Estándar</i> | <i>Estadístico</i> | |
|------------------|--------------------------|-----------------|--------------------|----------------|
| <i>Parámetro</i> | <i>Estimado</i> | <i>Error</i> | <i>T</i> | <i>Valor-P</i> |
| Intercepto | 4,7854 | 5,08372 | 0,941319 | 0,3998 |
| Pendiente | 0,227841 | 0,0269638 | 8,44988 | 0,0011 |

Análisis de Varianza

| <i>Fuente</i> | <i>Suma de Cuadrados</i> | <i>Gl</i> | <i>Cuadrado Medio</i> | <i>Razón-F</i> | <i>Valor-P</i> |
|---------------|--------------------------|-----------|-----------------------|----------------|----------------|
| Modelo | 5706,2 | 1 | 5706,2 | 71,40 | 0,0011 |
| Residuo | 319,673 | 4 | 79,9182 | | |
| Total (Corr.) | 6025,87 | 5 | | | |

Coefficiente de Correlación = 0,973114

R-cuadrada = 94,695 por ciento

R-cuadrado (ajustado para g.l.) = 93,3687 por ciento

Error estándar del est. = 8,9397

Error absoluto medio = 6,32611

Estadístico Durbin-Watson = 1,77621 (P=0,1776)

Autocorrelación de residuos en retraso 1 = -0,0220066

El StatAdvisor

La salida muestra los resultados de ajustar un modelo lineal para describir la relación entre Col_8 y 12,5. La ecuación del modelo ajustado es

$$\text{Col}_8 = 4,7854 + 0,227841 \cdot 12,5$$

Puesto que el valor-P en la tabla ANOVA es menor que 0,05, existe una relación estadísticamente significativa entre Col_8 y 12,5 con un nivel de confianza del 95,0%.

El estadístico R-Cuadrada indica que el modelo ajustado explica 94,695% de la variabilidad en Col_8. El coeficiente de correlación es igual a 0,973114, indicando una relación relativamente fuerte entre las variables. El error estándar del estimado indica que la desviación estándar de los residuos es 8,9397. Este valor puede usarse para construir límites de predicción para nuevas observaciones, seleccionando la opción de Pronósticos del menú de texto.

El error absoluto medio (MAE) de 6,32611 es el valor promedio de los residuos. El estadístico de Durbin-Watson (DW) examina los residuos para determinar si hay alguna correlación significativa basada en el orden en el que se presentan en el archivo de datos. Puesto que el valor-P es mayor que 0,05, no hay indicación de una autocorrelación serial en los residuos con un nivel de confianza del 95,0%.

Valores Predichos

| | | 95,00% | | 95,00% | |
|--|---------------------|---------------|-------------------|---------------|------------------|
| | <i>Predicciones</i> | <i>Límite</i> | <i>Predicción</i> | <i>Límite</i> | <i>Confianza</i> |
| | | | | | |

| X | Y | Inferior | Superior | Inferior | Superior |
|-------|---------|----------|----------|----------|----------|
| 12,0 | 7,51949 | -20,7372 | 35,7762 | -5,98523 | 21,0242 |
| 50,0 | 16,1774 | -11,3133 | 43,6682 | 4,35896 | 27,9959 |
| 75,0 | 21,8735 | -5,26463 | 49,0115 | 10,9003 | 32,8466 |
| 100,0 | 27,5695 | 0,658222 | 54,4807 | 17,1699 | 37,969 |
| 150,0 | 38,9615 | 12,1154 | 65,8076 | 28,7318 | 49,1913 |
| 200,0 | 50,3535 | 23,0546 | 77,6525 | 38,9883 | 61,7187 |
| 250,0 | 61,7456 | 33,5007 | 89,9905 | 48,2656 | 75,2256 |

El StatAdvisor

Esta tabla muestra los valores predichos para Col_8 usando el modelo ajustado. Además de las mejores predicciones, la tabla muestra:

- (1) intervalos de previsión del 95,0% para las nuevas observaciones
- (2) intervalos de confianza del 95,0% para la media de varias observaciones

Los intervalos de predicción y de confianza corresponden a las cotas internas y externas en la gráfica del modelo ajustado.

Anexo F. Regresión Simple Actividad Antioxidante pH7 agua etanol vs concentración en ppm agua etanol pH 7

Variable dependiente: Col_14 (A A pH7 agua etanol)

Variable independiente: Col_13 (ppm Agua etanol pH7)

Lineal: $Y = a + b \cdot X$

Coeficientes

| | Mínimos Cuadrados | Estándar | Estadístico | |
|------------|-------------------|------------|-------------|---------|
| Parámetro | Estimado | Error | T | Valor-P |
| Intercepto | 21,1334 | 2,40944 | 8,77111 | 0,0009 |
| Pendiente | 0,0925718 | 0,00637112 | 14,5299 | 0,0001 |

Análisis de Varianza

| Fuente | Suma de Cuadrados | Gl | Cuadrado Medio | Razón-F | Valor-P |
|---------------|-------------------|----|----------------|---------|---------|
| Modelo | 3582,24 | 1 | 3582,24 | 211,12 | 0,0001 |
| Residuo | 67,8718 | 4 | 16,968 | | |
| Total (Corr.) | 3650,12 | 5 | | | |

Coeficiente de Correlación = 0,990659

R-cuadrada = 98,1406 por ciento

R-cuadrado (ajustado para g.l.) = 97,6757 por ciento

Error estándar del est. = 4,11922

Error absoluto medio = 2,84469

Estadístico Durbin-Watson = 1,48565 (P=0,0893)

Autocorrelación de residuos en retraso 1 = 0,0135366

El StatAdvisor

La salida muestra los resultados de ajustar un modelo lineal para describir la relación entre Col_14 y Col_13. La ecuación del modelo ajustado es

$$\text{Col}_{14} = 21,1334 + 0,0925718 * \text{Col}_{13}$$

Puesto que el valor-P en la tabla ANOVA es menor que 0,05, existe una relación estadísticamente significativa entre Col_14 y Col_13 con un nivel de confianza del 95,0%.

El estadístico R-Cuadrada indica que el modelo ajustado explica 98,1406% de la variabilidad en Col_14. El coeficiente de correlación es igual a 0,990659, indicando una relación relativamente fuerte entre las variables. El error estándar del estimado indica que la desviación estándar de los residuos es 4,11922. Este valor puede usarse para construir límites de predicción para nuevas observaciones, seleccionando la opción de Pronósticos del menú de texto.

El error absoluto medio (MAE) de 2,84469 es el valor promedio de los residuos. El estadístico de Durbin-Watson (DW) examina los residuos para determinar si hay alguna correlación significativa basada en el orden en el que se presentan en el archivo de datos. Puesto que el valor-P es mayor que 0,05, no hay indicación de una autocorrelación serial en los residuos con un nivel de confianza del 95,0%.

Valores Predichos

| | | 95,00% | | 95,00% | |
|-------|--------------|----------|------------|----------|-----------|
| | Predicciones | Límite | Predicción | Límite | Confianza |
| X | Y | Inferior | Superior | Inferior | Superior |
| 50,0 | 25,762 | 12,8059 | 38,7181 | 19,6743 | 31,8497 |
| 75,0 | 28,0763 | 15,2466 | 40,906 | 22,2625 | 33,8901 |
| 100,0 | 30,3906 | 17,6732 | 43,108 | 24,8289 | 35,9522 |
| 150,0 | 35,0192 | 22,4825 | 47,5559 | 29,8841 | 40,1542 |
| 200,0 | 39,6478 | 27,2312 | 52,0643 | 34,8135 | 44,482 |
| 250,0 | 44,2764 | 31,9177 | 56,635 | 39,5928 | 48,9599 |

El StatAdvisor

Esta tabla muestra los valores predichos para Col_14 usando el modelo ajustado. Además de las mejores predicciones, la tabla muestra:

- (1) intervalos de previsión del 95,0% para las nuevas observaciones
- (2) intervalos de confianza del 95,0% para la media de varias observaciones

Los intervalos de predicción y de confianza corresponden a las cotas internas y externas en la gráfica del modelo ajustado.

Anexo G. Regresión Simple Actividad Antioxidante Agua Etanol pH 5,8 vs agua etanol pH 5,8

Variable dependiente: Col_12 (A Antioxidante Agua Etanol pH 5,8)

Variable independiente: Col_11 (ppm Agua etanol-pH 5,8)

Lineal: $Y = a + b * X$

Coeficientes

| | <i>Mínimos Cuadrados</i> | <i>Estándar</i> | <i>Estadístico</i> | |
|------------------|--------------------------|-----------------|--------------------|----------------|
| <i>Parámetro</i> | <i>Estimado</i> | <i>Error</i> | <i>T</i> | <i>Valor-P</i> |
| Intercepto | 16,127 | 6,66718 | 2,41886 | 0,0729 |
| Pendiente | 0,0538865 | 0,0088406 | 6,09535 | 0,0037 |

Análisis de Varianza

| <i>Fuente</i> | <i>Suma de Cuadrados</i> | <i>Gl</i> | <i>Cuadrado Medio</i> | <i>Razón-F</i> | <i>Valor-P</i> |
|---------------|--------------------------|-----------|-----------------------|----------------|----------------|
| Modelo | 5106,98 | 1 | 5106,98 | 37,15 | 0,0037 |
| Residuo | 549,829 | 4 | 137,457 | | |
| Total (Corr.) | 5656,81 | 5 | | | |

Coeficiente de Correlación = 0,950159

R-cuadrada = 90,2802 por ciento

R-cuadrado (ajustado para g.l.) = 87,8503 por ciento

Error estándar del est. = 11,7242

Error absoluto medio = 8,19733

Estadístico Durbin-Watson = 1,80505 (P=0,1888)

Autocorrelación de residuos en retraso 1 = -0,0455503

El StatAdvisor

La salida muestra los resultados de ajustar un modelo lineal para describir la relación entre Col_12 y Col_11. La ecuación del modelo ajustado es

$$\text{Col}_{12} = 16,127 + 0,0538865 * \text{Col}_{11}$$

Puesto que el valor-P en la tabla ANOVA es menor que 0,05, existe una relación estadísticamente significativa entre Col_12 y Col_11 con un nivel de confianza del 95,0%.

El estadístico R-Cuadrada indica que el modelo ajustado explica 90,2802% de la variabilidad en Col_12. El coeficiente de correlación es igual a 0,950159, indicando una relación relativamente fuerte entre las variables. El error estándar del estimado indica que la desviación estándar de los residuos es 11,7242. Este valor puede usarse para construir límites de predicción para nuevas observaciones, seleccionando la opción de Pronósticos del menú de texto.

El error absoluto medio (MAE) de 8,19733 es el valor promedio de los residuos. El estadístico de Durbin-Watson (DW) examina los residuos para determinar si hay alguna correlación significativa basada en el orden en el que se presentan en el archivo de datos. Puesto que el valor-P es mayor que 0,05, no hay indicación de una autocorrelación serial en los residuos con un nivel de confianza del 95,0%.

Valores Predichos

| | | 95,00% | | 95,00% | |
|----------|---------------------|-----------------|-------------------|-----------------|------------------|
| | <i>Predicciones</i> | <i>Límite</i> | <i>Predicción</i> | <i>Límite</i> | <i>Confianza</i> |
| <i>X</i> | <i>Y</i> | <i>Inferior</i> | <i>Superior</i> | <i>Inferior</i> | <i>Superior</i> |
| 50,0 | 18,8213 | -18,2213 | 55,8639 | 1,14259 | 36,5001 |
| 75,0 | 20,1685 | -16,6856 | 57,0225 | 2,88829 | 37,4487 |
| 100,0 | 21,5157 | -15,1592 | 58,1905 | 4,6211 | 38,4102 |
| 150,0 | 24,21 | -12,1348 | 60,5547 | 8,04438 | 40,3756 |

| | | | | | |
|-------|---------|---------|---------|---------|--------|
| 200,0 | 26,9043 | -9,1492 | 62,9578 | 11,4046 | 42,404 |
|-------|---------|---------|---------|---------|--------|

El StatAdvisor

Esta tabla muestra los valores predichos para Col_12 usando el modelo ajustado. Además de las mejores predicciones, la tabla muestra:

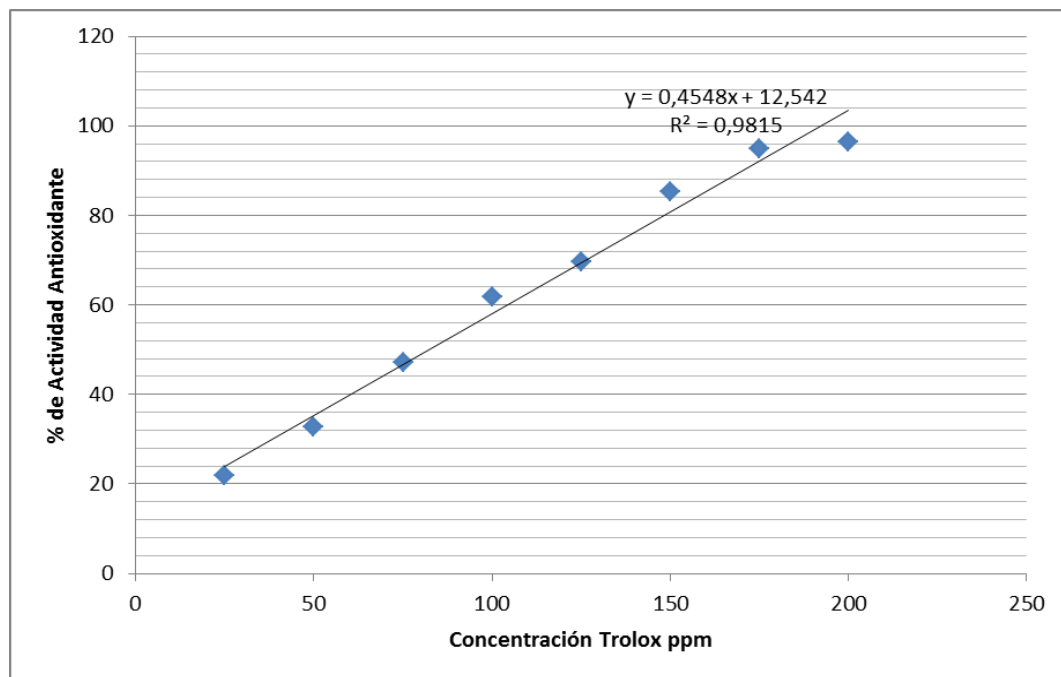
- (1) intervalos de previsión del 95,0% para las nuevas observaciones
- (2) intervalos de confianza del 95,0% para la media de varias observaciones

Los intervalos de predicción y de confianza corresponden a las cotas internas y externas en la gráfica del modelo ajustado.

Anexo H Porcentaje de inhibición de diferentes extractos de la semilla de aguacate variedad Lorena

| Concentración μl | Actividad antioxidante | | | | | | |
|--------------------------------|------------------------|--|---|---|--|---|---|
| | Patrón: Trolox | T1: Extracto Agua, semilla; pH 5,1 | T2: Extracto Agua, NaOH, Semilla; pH 9,3 | T3: Extracto Agua, Semilla; pH7 | T4: Extracto Agua, NaOH,semilla; pH 7 | T5: Extracto Agua, Etanol, Semilla; pH 5,8 | T6:Extracto Agua, Etanol,Semilla; pH 7 |
| 50 | 35,91 | 23,81 | 22,12 | 16,18 | 11,12 | 18,82 | 25,76 |
| 75 | 46,66 | 30,78 | 22,77 | 21,87 | 11,85 | 20,17 | 28,08 |
| 100 | 58,03 | 37,75 | 23,43 | 27,60 | 12,58 | 21,52 | 30,39 |
| 150 | 80,77 | 51,70 | 24,73 | 38,96 | 14,04 | 24,21 | 35,02 |
| 200 | 100,00 | 65,64 | 26,03 | 50,35 | 15,50 | 26,90 | 39,65 |

Anexo I Curva de calibración trolox para el ensayo DPPH•



Bibliografía

- Acosta, Martha Cecilia. (2011). *Evaluación y escalamiento del proceso de extracción de aceite de aguacate utilizando tratamiento enzimático*. Universidad Nacional de Colombia, 46.
- Adeel, Shahid, Ali, Shaukat, Bhatti, Ijaz A, & Zsila, Ferenc. (2009). *Dyeing of cotton fabric using pomegranate (Punica granatum) aqueous extract*. *Asian Journal of Chemistry*, 21(5), 3493.

- Alam, Md Nur, Bristi, Nusrat Jahan, & Rafiquzzaman, Md. (2013). Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 21(2), 143-152. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jsps.2012.05.002>
- Amórtegui Ferro, Ignacio, Capera Ducuara, Edgar, & Godoy Acosta, José Vicente. (2001). *El cultivo de aguacate. Módulo educativo para el desarrollo tecnológico de la comunidad rural.*
- Ayala-Zavala, J. F., Vega-Vega, V., Rosas-Domínguez, C., Palafox-Carlos, H., Villa-Rodríguez, J. A., Siddiqui, Md Wasim, . . . González-Aguilar, G. A. (2011). Agro-industrial potential of exotic fruit byproducts as a source of food additives. *Food Research International*, 44(7), 1866-1874. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2011.02.021>
- Barragán, Blanca, Téllez, Azucena, & Laguna, Adriana. (2008). Utilización de residuos agroindustriales. *Revista Sistemas Ambientales*, 2(1), 44-50.
- Bernal de Ramírez, Inés. (1993). *Análisis de alimentos.* Bogota, Colombia: Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales 313p. ISBN, 999270411.
- Bernal, E, Diaz, D, Tamayo, V, Cordoba, G, Londoño, Z, Tamayo, M, & Londoño, B. (2008). *Tecnología para el cultivo del aguacate: Corporacion Colombiana de Investigacion Agropecuaria, Antioquia (Colombia).*
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1), 25-30. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Causado, R, Edwin, & Reatiga, C, Idelfonso. (2013). Cadena logística de subproductos residuales en la industria de tajada de plátano para exportación. *Dimensión empresarial*, 11(2), 9-16.
- Cuca Y, Diana. (2012). *Propuesta para la automatización del proceso de fabricación de jabón, Universidad de San Buenaventura de Cali.*
- Chandrasekhar, J, Madhusudhan, MC, & Raghavarao, KSMS. (2012). Extraction of anthocyanins from red cabbage and purification using adsorption. *Food and bioproducts processing*, 90(4), 615-623. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fbp.2012.07.004>
- Chaparro, María Patricia, Paredes, María José, Díaz, Bibiana, Hoyos, Víctor Eduardo, & Ninco, Andrea. (2011). Sustitución de colorante artificial por natural en conservas de cereza marrasquino. *Alimentos Hoy*, 19(20), 2-12.
- Chen, Zheng, Bertin, Riccardo, & Froidi, Guglielmina. (2013). EC 50 estimation of antioxidant activity in DPPH assay using several statistical programs. *Food chemistry*, 138(1), 414-420.
- Dabas, Deepti, Elias, Ryan J, Lambert, Joshua D, & Ziegler, Gregory R. (2011). A colored avocado seed extract as a potential natural colorant. *Journal of food science*, 76(9), C1335-C1341. doi: DOI: 10.1111/j.1750-3841.2011.02415.x

- Dabas, Deepti, M Shegog, Rachel, R Ziegler, Gregory, & D Lambert, Joshua. (2013). Avocado (*Persea americana*) seed as a source of bioactive phytochemicals. *Current pharmaceutical design*, 19(34), 6133-6140.
- Devia, J, & Saldarriaga, D. (2005). Proceso para obtener colorante a partir de la semilla del aguacate. *Revista Universidad EAFIT*41, 137.
- Devia, Jorge Enrique , & Saldarriaga, Diego Fernando. (2012). Proceso para obtener colorante a partir de la semilla del aguacate. *Revista Universidad EAFIT*, 41(137), 36-43.
- Díaz, Carmen, & Villafuerte, Leopoldo. (2012). Elementos que influyen la medición del efecto de electrolitos sobre la extensión de una gota de champú. *Revista mexicana de ciencias farmacéuticas*, 43(2), 31-45.
- Garzón, Gloria. (2008). Anthocyanins as natural colorants and bioactive compounds: A review. *Acta Biológica Colombiana*, 13(3), 27-36.
- Glenn Jr, Robert Wayne. (2001). *Liquid personal cleansing compositions which contain soluble oils and soluble synthetic surfactants: Google Patents*.
- Gustavsson, Jenny, Cederberg, Christel, Sonesson, Ulf, Van Otterdijk, R, & Meybeck, Alexandre. (2012). Pérdidas y desperdicio de alimentos en el mundo.
- Hikita, Y, Toyoda, T, & Azuma, M. (2001). *Weathering testing of timber: discoloration*. IMAMURA, Y. *High performance utilization of wood for outdoor uses*. Kyoto: Press-Net.
- Hudzicki, Jan. (2009). Kirby-Bauer disk diffusion susceptibility test protocol. *American Society for Microbiol*.
- Hunter Associates Laboratory. (2012). *Measuring color using Hunter L, a, b versus CIE 1976 L*a*b**. AN, 1005.00. 2016
- Hurtado de Mendoza Borges, P; Morais dos Santos Hurtado de Mendoza, Z;. (2015). ANÁLISIS COLORIMÉTRICO DEL EXTRACTO ACUOSO DE HOJAS DE TECA. *Revista Árvore*, 39(5), 953-961.
- Icontec NTC 218. (2011). *Grasas y aceites vegetales y animales, Determinación del índice de acidez (Tercera actualización ed.)*.
- Icontec NTC 236. (2011). 236. *Grasas y aceites vegetales y animales. Determinación del índice de peróxido.*, 17.
- Icontec NTC 258. (2011). *Grasas y aceites comestibles vegetales y animales. Aceite de oliva y aceite de orujo de oliva (Quinta actualización)*. Bogotá.
- Icontec NTC 709. (2008). *Jabón Líquido. Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación (Primera actualización)*.
- Jimenez, Marcial Silva, Camarena, Guisella Gallardo, & Chapman, Gloria Pascual. (2014). *Caracterización físico-química del Aceite de Linaza (Linum usitatissimum L.) del Departamento Cajamarca, Perú. INFINITUM...* 3(2).
- Kang, Dae Gill, Yun, Chi keun, & Lee, Ho Sub. (2003). Screening and comparison of antioxidant activity of solvent extracts of herbal medicines used in Korea. *Journal of Ethnopharmacology*, 87(2-3), 231-236. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0378-8741\(03\)00142-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0378-8741(03)00142-9)

- Kapadia, Govind J., Tokuda, Harukuni, Sridhar, Rajagopalan, Balasubramanian, Venkataraman, Takayasu, Junko, Bu, Ping, . . . Nishino, Hoyoku. (1998). Cancer chemopreventive activity of synthetic colorants used in foods, pharmaceuticals and cosmetic preparations¹. *Cancer Letters*, 129(1), 87-95. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0304-3835\(98\)00087-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0304-3835(98)00087-1)
- Lafont, Jennifer J, & Portacio, Alfonso A. (2011). Extracción y Caracterización Físicoquímica del Aceite de la Semilla (Almendra) del Marañón (*Anacardium occidentale* L). *Información tecnológica*, 22(1), 51-58.
- Lee, Sung-Gyu, Yu, Mi-Hee, Lee, Sam-Pin, & Lee, In-Seon. (2008). Antioxidant activities and induction of apoptosis by methanol extracts from avocado. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, 37(3), 269-275.
- Leite, João Jaime Giffoni, Brito, Érika Helena Salles, Cordeiro, Rossana Aguiar, Brillhante, Raimunda Sâmia Nogueira, Sidrim, José Júlio Costa, Bertini, Luciana Medeiros, . . . Rocha, Marcos Fábio Gadelha. (2009). Chemical composition, toxicity and larvicidal and antifungal activities of *Persea americana* (avocado) seed extracts. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 42(2), 110-113.
- Lock, Olga. (1997). *Colorantes naturales*.
- Londoño, Londoño Julián. (2012). *Antioxidantes: importancia biológica y métodos para medir su actividad*. *Desarrollo y Transversalidad serie Lasallista Investigación y Ciencia*.
- Manayay, Damian, Ribas, Albert Ibarz, Castillo, Williams, & Palacios, Lenin. (2013). Cinética de la diferencia de color y croma en el proceso térmico de pulpa de mango (*Mangifera indica* L.) variedad Haden. *Scientia Agropecuaria*, 4(3), 181-190.
- Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. (2013). *Sistema de Estadísticas Agropecuarias - Agronet*. Retrieved 21/7/2016, 2016, from <http://www.agronet.gov.co/estadistica/Paginas/default.aspx>
- Mirabella, Nadia, Castellani, Valentina, & Sala, Serenella. (2014). Current options for the valorization of food manufacturing waste: a review. *Journal of Cleaner Production*, 65, 28-41. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jclepro.2013.10.051>
- Mishra, Krishnanand, Ojha, Himanshu, & Chaudhury, Nabo Kumar. (2012). Estimation of antiradical properties of antioxidants using DPPH assay: A critical review and results. *Food Chemistry*, 130(4), 1036-1043. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.07.127>
- Moy, Lawrence S. (1999). *Cosmetic formulation and method for amelioration of skin keratoses and striae distensae*: Google Patents.
- Nagaraj, M, Sandhya, V, Supriya, G, Manju, R, Kumari, Pranitha, Bole, Shivaji, . . . Kiran, B. (2010). Antioxidant and antibacterial activity of avocado (*Persea gratissima* Gaertner) seed extract. *World Applied Sciences Journal*, 9(6), 695-698.

- Naziri, Eleni, Nenadis, Nikolaos, Mantzouridou, Fani Th, & Tsimidou, Maria Z. (2014). Valorization of the major agrifood industrial by-products and waste from Central Macedonia (Greece) for the recovery of compounds for food applications. *Food Research International*, 65, Part C, 350-358. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2014.09.013>
- Núñez, Carlos Eduardo. (2008). Extracciones con equipo Soxhlet. 15, from www.cenunez.com.ar
- Obón, J. M., Castellar, M. R., Alacid, M., & Fernández-López, J. A. (2009). Production of a red-purple food colorant from *Opuntia stricta* fruits by spray drying and its application in food model systems. *Journal of Food Engineering*, 90(4), 471-479. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2008.07.013>
- Ortiz, Gabriela Estefanía. (2016). *Diseño y desarrollo del producto y del proceso de biosoap: jabón líquido corporal de baño*. Quito: Universidad de las Américas, 2016.
- Ortiz P, Gabriela. (2016). *Diseño y desarrollo del producto y del proceso de biosoap: jabón líquido corporal de baño*. Quito: Universidad de las Américas, 2016.
- Ozolua, R, Anaka, O, Okpo, S, & Idogun, S. (2009). Acute and sub-acute toxicological assessment of the aqueous seed extract of *Persea americana* Mill (Lauraceae) in rats. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 6(4).
- Park, Ruth, Saleh, David, Vitry, Charles, & Wang, Lesley. (2015). *Exploration of avocado oil extraction methods and potential in rural Tanzania*.
- Patel, Jayesh A. (2005). *Liquid soap with vitamin beads and method for making same*: Google Patents.
- Patil, Ganapathi, Madhusudhan, M. C., Ravindra Babu, B., & Raghavarao, K. S. M. S. (2009). Extraction, dealcoholization and concentration of anthocyanin from red radish. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 48(1), 364-369. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cep.2008.05.006>
- Patil, Ganapathi, Madhusudhan, MC, Babu, B Ravindra, & Raghavarao, KSMS. (2009). Extraction, dealcoholization and concentration of anthocyanin from red radish. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 48(1), 364-369. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cep.2008.05.006>
- Ramos-Jerz, del R;, Villanueva, S, & Deters, AM. (2007). Influence of avocado seed fractions (*Persea americana* Mill.) obtained by HSCCC on human skin keratinocytes and fibroblasts: Differences of effects in regard of tested cell types. *Planta Medica*, 73(09), P_485.
- Ramos, María; Ortiz , Alicia; Chamorro, Germán; Garduño, Leticia. (2011). *Estudio de las Propiedades de la Semilla de Aguacate (Persea americana) Variedad Hass, para el Aprovechamiento Integral del Fruto*.

-
- Restrepo, Ana María , Londoño-Londoño, Julián, Álvarez, Dubán González, Paz, Yara Benavides, & Salazar, Blanca Lucía Cardona. (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*, 9(2), 151-161.
- Rodríguez-Carpena, JG, Morcuende, D, & Estévez, M. (2012). Avocado, sunflower and olive oils as replacers of pork back-fat in burger patties: Effect on lipid composition, oxidative stability and quality traits. *Meat science*, 90(1), 106-115.
- Salgado, GA Buelvas, Gómez, JH Patiño, & Salazar, JA Cano. (2012). Evaluación del proceso de extracción de aceite de aguacate hass (*Persea americana* Mill) utilizando tratamiento enzimático. *Revista Lasallista de investigación*, 9(2), 138-150.
- Saval, Susana. (2012). Aprovechamiento de residuos agroindustriales: Pasado, presente y futuro. *BioTecnología*, 16(2), 14-46.
- Schanda, János. (2007). *Colorimetry: understanding the CIE system*: John Wiley & Sons.
- Serpa, Angélica M, Echeverri, Andrés, Lezcano, Maria P, Vélez, Lina M, Ríos, Andres F, & Hincapie, Gustavo Adolfo. (2014). Extracción de aceite de aguacate variedad "Hass"(*Persea americana* Mill) liofilizado por prensado en frío. *Revista Investigaciones Aplicadas*, 8(2), 113-123.
- Soong, Yean-Yean, & Barlow, Philip 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>
- Theander, Katarina, & Pugh, Robert J. (2003). Synergism and foaming properties in mixed nonionic/fatty acid soap surfactant systems. *Journal of Colloid and Interface Science*, 267(1), 9-17. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0021-9797\(03\)00482-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0021-9797(03)00482-X)
- Tovar, Miguel Ángel Ortega. (2003). Valor nutrimental de la pulpa fresca de aguacate Hass. Paper presented at the Proceedings V World Avocado Congress (Actas V Congreso Mundial del Aguacate).
- Valderrama, Eduardo Ludvik Hilgert. (2012). *Formulación y manufactura de productos para la higiene personal y cosmética*.
- Wu, Di, & Sun, Da-Wen. (2013). Colour measurements by computer vision for food quality control – A review. *Trends in Food Science & Technology*, 29(1), 5-20. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2012.08.004>

