

SEP



SECRETARÍA DE
EDUCACIÓN PÚBLICA

Sistema Nacional de Institutos Tecnológicos



Dirección General de Institutos Tecnológicos



**“Extracción del aceite de la almendra de durazno
predigerida con enzimas”**

Proyecto de residencia

Que presenta:

María Elena Zenteno Vázquez

Ing. Bioquímica

Asesor:

Dra. Sandy Luz Ovando Chacón

Tuxtla Gutiérrez, Chiapas

Diciembre del 2013

Tabla de contenido

1. INTRODUCCIÓN.....	4
2. JUSTIFICACIÓN	5
3. OBJETIVOS	5
4. CARACTERIZACIÓN DEL ÁREA EN QUE PARTICIPÓ	6
5. PROBLEMAS A RESOLVER	8
6. ALCANCES Y LIMITACIONES	8
7. MARCO TEÓRICO	9
7.1. Aspectos generales del durazno.....	9
7.2 Producción a Nivel Nacional	11
7.2.3 Producción en México	12
7.2.4 Principales usos de durazno.....	14
7.3 Fuentes vegetales de aceites.....	15
7.3.1 Origen y características de las plantas oleaginosas.....	15
7.3.2 Estructura de las oleaginosas	16
7.4.1 Extracción del aceite vegetal por prensado.....	19
7.4.2 Extracción por solventes.....	19
7.4.3 Extracción AEP	20
7.5 Enzimas.....	21
7.5.1 Clasificación de las enzimas.....	22
7.5.2 Factores que influyen en la velocidad de las reacciones enzimáticas..	23
7.5.3 Reacciones de hidrólisis enzimática.....	23
7.5.4 Reacciones de hidrólisis enzimática en las células oleaginosas	24
7.5.5 Estudios sobre la extracción de aceite de durazno	25
7.5.6 Estudios sobre la extracción de aceite vegetal con enzimas	25
8. DESARROLLO EXPERIMENTAL.....	28
8.1 Extracción de aceite con enzimas	29
8.2 Métodos de análisis.....	30
9 DIAGRAMA DE FLUJO	31
10 RESULTADOS:.....	32
11 DISCUSIÓN.....	34

12	CONCLUSION	35
13	RECOMENDACIONES	35
14	BIBLIOGRAFIA	36
15	ANEXOS	39

1. INTRODUCCIÓN

Actualmente, las empresas procesadoras de frutas desechan grandes cantidades de materia orgánica que no es aprovechada, debido a que las empresas dirigen su mayor esfuerzo hacia el aprovechamiento de la pulpa para la obtención de productos alimenticios de mayor valor agregado.

Las semillas de durazno contienen en su interior almendras que son altamente oleaginosas, es decir, se puede obtener aceite vegetal a partir de un procedimiento de extracción adecuado.

Para aumentar el rendimiento de extracción de aceites, en la última década se ha incrementado la utilización de enzimas como alternativa para mejorar la eficiencia de los procesos. De este modo la tecnología enzimática se ha utilizado en procesos de extracción de aceites vegetales como girasoles, palmiste, coco.

Esta tecnología también es una alternativa como pretratamiento en la extracción con solventes, reduciendo los requerimientos en cuanto al uso de estos compuestos.

Teniendo en cuenta lo anterior, en este trabajo se evaluó el efecto de la enzima Viscoenzyme L, sobre la extracción del aceite en la almendra de durazno que consistió en utilizar tres diferentes concentraciones de enzima las cuales fueron, 0.2%, 0.8% y 1.2% y se tuvieron muestras por duplicados, resultando tener mayor rendimiento la de menor concentración con un porcentaje de 38.5 %.

El proyecto se realizó en las instalaciones del Polo Tecnológico Nacional para el Desarrollo de Investigación y Pruebas Analíticas en Biocombustibles, del Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez.

2. JUSTIFICACIÓN

La extracción de aceite hoy en día tiene gran importancia en las diferentes industrias alimentarias, cosméticas, en combustibles entre otras, aprovechando diferentes materiales vegetales tal es el caso de semillas oleaginosas.

Las oleaginosas nos brindan aceites, las cuales son extraídas cuando se requieren por volumen. Uno de los métodos de extracción eficientes es el de solventes ya que facilita la extracción del aceite, pero el uso de solventes implica una contaminación al medio ambiente y al producto final, por lo que requiere de un proceso de refinado lo cual incluye un costo extra al producto. Debido a esto se pretenden usar métodos amables al medio ambiente y un producto no expuesto a disolvente; al respecto la extracción enzimática ha sido reportada ser una muy buena opción ya que se obtiene un producto de calidad al consumidor en cualquiera de sus usos más en los alimentarios, cosméticos y con fines medicinales.

Las semillas usadas deben ser semillas que contengan aceite y que no se le este dando el uso apropiado o simplemente se desechen, tal como es el caso de la semilla del durazno subproducto de las industrias de jugos, néctares, mermeladas, almíbar entre otros.

Si bien se sabe, se producen miles y miles de litros entre jugos y néctares dando la posibilidad de mucha materia prima disponible y que estas puedan ser aprovechadas específicamente la almendra, ya que no se puede consumir por el sabor amargo que esta posee y la extracción del aceite de esta resulta una muy buena opción de su utilización.

3. OBJETIVOS

a. OBJETIVO GENERAL:

Comparar el efecto de la extracción enzimática del aceite de la almendra del durazno con la extracción de aceite por medio de solventes.

b. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Aplicar hidrólisis enzimática para la extracción de aceite de la almendra de durazno.

Determinar el efecto de la concentración de la enzima, sobre el rendimiento de extracción de aceite de la almendra de durazno.

4. CARACTERIZACIÓN DEL ÁREA EN QUE PARTICIPÓ

Historia

En la década de los 70's, se incorpora el estado de Chiapas al movimiento educativo nacional extensión educativa, por intervención del Gobierno del Estado de Chiapas ante la federación. Esta gestión dió origen a la creación del Instituto Tecnológico Regional de Tuxtla Gutiérrez (ITRTG) hoy Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez (ITTG). El día 23 de agosto de 1971 el Gobernador del Estado, Dr. Manuel Velasco Suárez, colocó la primera piedra de lo que muy pronto sería el Centro Educativo de nivel medio superior más importante de la entidad. El día 22 de octubre de 1972, con una infraestructura de 2 edificios con 8 aulas, 2 laboratorios y un edificio para talleres abre sus puertas el Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez con las carreras de Técnico en Máquinas de Combustión Interna, Electricidad, Laboratorista Químico y Máquinas y Herramientas. En el año 1974 dio inicio la modalidad en el nivel superior, ofreciendo las carreras de Ingeniería Industrial en Producción y Bioquímica en Productos Naturales. En 1980 se amplió la oferta educativa al incorporarse las carreras de Ingeniería Industrial, Eléctrica e Ingeniería Industrial Química. En 1987 se abre la carrera de Ingeniería en Electrónica y se liquidan en 1989 las carreras del sistema abierto del nivel medio superior y en el nivel superior se reorientó la oferta en la carrera de Ingeniería Industrial Eléctrica y se inicia también Ingeniería Mecánica. En 1991 surge la licenciatura en Ingeniería en Sistemas Computacionales. En 1998 se estableció el programa interinstitucional de postgrado con la Universidad Autónoma de Chiapas para impartir en el Instituto Tecnológico la Maestría en Biotecnología. A partir de 2000 se abrió también la Especialización en Biotecnología Vegetal y un año después dio inicio el programa de Maestría en Ciencias en Ingeniería Bioquímica y la Licenciatura en Informática. El 29 de noviembre del 2011 se inaugura el Polo Tecnológico Nacional para el Desarrollo de Investigación y Pruebas Analíticas en Biocombustibles.

Misión

Formar de manera integral profesionistas de excelencia en el campo de la ciencia y tecnología con actitud emprendedora, respecto al medio ambiente y apego a los valores éticos.

Visión

Ser una institución de excelencia en la educación superior tecnológica del sureste, comprometida con el desarrollo socioeconómico sustentable de la región.

Área

La realización del siguiente trabajo experimental, se llevó a cabo en los laboratorios del Polo Tecnológico Nacional para el Desarrollo de Investigación y Pruebas Analíticas en Biocombustibles (fig. 1). Consta de un área aproximada 800 metros cuadrados, cuenta con 11 laboratorios y en ellos se realizan métodos de prueba para biodiesel y otros aceites de origen vegetal, en particular se trabajo en el laboratorio de Análisis Bromatológicos.



Figura 1. Vista aérea del Polo Tecnológico Nacional para el Desarrollo de Investigación y Pruebas Analíticas en Biocombustibles

El Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez se ubica en carretera Panamericana Km. 1080, colonia Terán.

5. PROBLEMAS A RESOLVER

Los aceites de origen vegetal tienen un gran campo de aplicación en diferentes industrias tales como la alimenticia, cosméticos, mecánicos, etc. Existen diferentes métodos para extraer estos aceites tales como prensados, extracción líquido-sólido, extracción por solvente o combinando estos últimos, etc.

Cada método de estos presenta diferentes ventajas y cada exigencia industrial necesita que la materia oleosa tenga determinadas características. Por lo tanto, se desean métodos que minimicen los costos asociados a la extracción y que sean compatibles al medio ambiente. Una alternativa ha sido el uso de técnicas eficaces y recuperables como son las enzimas, particularmente enzimas hidrolíticas.

El durazno (*Prunus pérsica*) mayoritariamente es utilizado en la industrias de jugos y néctares, seguido de almibares y mermeladas, en cuya actividad se concentra gran cantidad de semillas del fruto, que son desechadas como residuos. Por lo tanto, utilizar estas semillas particularmente la almendra para la extracción de aceite a través de enzimas se le dará un uso a este subproducto y así también una aplicación industrial al aceite obtenido.

6. ALCANCES Y LIMITACIONES

Alcances:

La extracción de aceites, hoy en día trae nuevos métodos y eficaces garantizando la calidad del producto final, en este caso la extracción de aceite de la almendra de durazno es un nuevo producto ya que no se le encontrado algún uso a la almendra por lo tal la extracción de dicho aceite es una novedad dando paso a estudios posteriores para determinar el fin que esta pueda tener y poder ser aplicados en alguna industria y sacarle el mejor provecho mediante la caracterización del aceite con sus respectivas pruebas.

Limitaciones:

La limitante de este proyecto, es la obtención de estas semillas tendría que ser traídas de las industrias de jugos, néctares y pues en nuestro Estado no tenemos este tipo de semillas por lo tal el transporte de estas semillas incluirían un costo extra.

7. MARCO TEÓRICO

7.1. Aspectos generales del durazno Origen del Durazno.

El durazno *Prunus persica*, es un árbol frutal caducifolio originario de China, lugar donde todavía hoy se encuentra la mayor diversidad genética. Su primer viaje lo hizo a la antigua Persia; de ahí a Grecia. Luego pasó a Italia, de donde los Romanos lo llevaron a toda Europa y norte de África.

Se cree que Cristóbal Colón en su segundo viaje al nuevo mundo, trajo el durazno a América, donde rápidamente se extendió a E.U.A., México y otros países.

Clasificación Taxonómica del Durazno.

El durazno pertenece al Reino Vegetal. División Antofitas. Subdivisión Angiospermas. Clase Dicotiledóneas. Orden Rosales. Familia Rosácea. Subfamilia Prunoideas. Género *Prunus*. Subgénero *Amigdalus*. Especie *Pérsica*.

Principales Características Botánicas del Durazno.

El árbol de durazno es de tamaño medio (3 a 5 m. de altura). La extensión de sus ramas alcanza alrededor de 15 metros cuadrados. Su copa tiende a ser redonda. Es un árbol poco longevo, de manera que alcanzará sus máximos rendimientos entre los 15 a 20 años, según sea el manejo que reciba.

Raíz.

Es pivotante cuando procede de plantas obtenidas de semilla; aunque no es muy profunda.

Ramas.

Tiene ramas vegetativas, ramas mixtas, ramas chifonas y ramilletes de mayo; según sea el tipo de yemas de madera y/o de flor con que cuenten.

Hojas.

Son lanceoladas, alternas y ligeramente aserradas. La lámina es un poco ondulada, de color verde de diferente intensidad según sea el nivel nutricional y de humedad que tenga el árbol.

Flores.

Son hermafroditas, completas. En durazno, cada yema floral es capaz de emitir una sola flor y una sola vez; y cada flor es capaz de “amarrar” un solo fruto y una sola vez. Tiene 5 pétalos, 5 sépalos y estambres en múltiplo de 5, pudiendo ser 25 ó 30. El cáliz es gamosepalo, caduco. El ovario es unicarpelar.

Por el tamaño y forma de la flor de durazno es muy factible hacer emasculaciones y cruzamientos.

Frutos.

Es una drupa. Su pericarpio generalmente es pubescente, aunque hay algunos glabros como es la nectarina. El mesocarpio es carnoso, con buen contenido de jugo y azúcar; puede estar separado del hueso ó firmemente adherido. El endocarpio ó hueso es muy duro, y aloja en su interior una almendra que contiene dos cotiledones (figura 2).

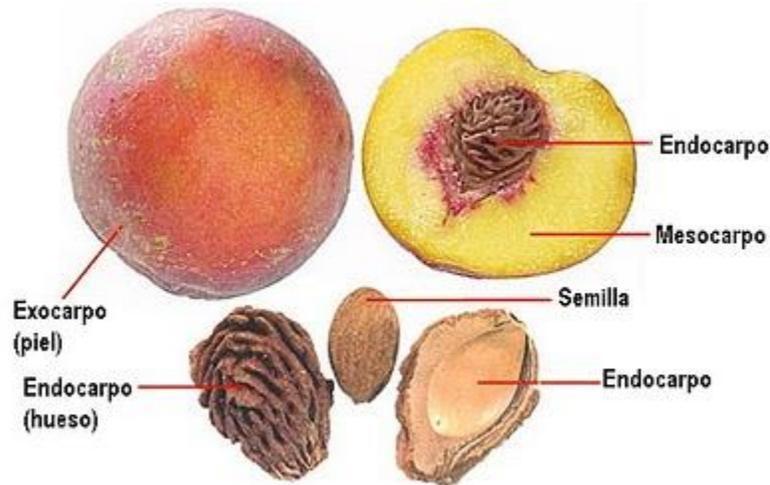


Figura 2. Estructura del fruto de durazno

Características organolépticas

Las características organolépticas (tabla 1.1) son importantes en los alimentos ya que nos permite identificar si un alimento es fresco o está en buen estado.

Tabla 1.1 características organolépticas duraznos

Forma:	Este fruto es una drupa de forma redonda, alberga en su interior un hueso o pepa, el cual alberga a la semilla.
Color:	Por lo general tiene piel (cáscara) de color rojo amarillento, con pulpa amarillenta
Sabor:	Dulce, con casi nada de ácido,
Textura:	Carnosa, jugosa
Consistencia:	Firme

Características nutricionales

La fruta durazno o melocotón es dulce y jugoso, y se le reconoce por el aspecto aterciopelado de su piel. Es rico en fibra y vitamina A, pero destaca por su alto contenido en vitamina C y demás compuestos que se presentan en la tabla 1.2.

Tabla 1.2 Características químicas de durazno

Agua g	87,6	Vitamina C mg	6,6
Energía kcal	43	Vitamina A IU	535
Grasas g	0,09	Vitamina B6 mg	0,018
Hidratos carbono g	11,1	Tiamina (B1) mg	0,017
Fibra mg	2	Riboflavina (B2) mg	0,041
Potasio mg	197	Niacina mg	0,99
Fósforo mg	12	Acido fólico mcg	3
Sodio mg	0	Selenio mcg	0,4
Calcio mg	5	Magnesio mg	15
Zinc mg	0,14		

7.2 Producción a Nivel Nacional

De acuerdo a datos de la FAOStat (Diciembre 5, 2011), durante el año 2009 los primeros cinco países productores de melocotones (durazno, nectarinos) son liderados por China (10'170,038 Ton) seguido de Italia, USA, España y Grecia; el país líder en exportaciones es España (574,305 Ton) seguido de Italia y el país que ocupa el primer lugar en importaciones es Alemania (274,863 Ton) seguido de Francia, como lo muestra la tabla 1.3.

Tabla 1.3 Datos mundiales del durazno

PAISES PRODUCTORES		PAISES EXPORTADORES		PAISES IMPORTADORES	
China	10,170,038	España	574,305	Alemania	274,863
Italia	1,692,500	Italia	357,909	Francia	120,433
USA	1,197,670	UE(27)	207,008	Rusia Fed.	163,424
España	1,191,300	USA	96,696	Italia	78,009
Grecia	734,000	Chile	96,036	Reino Unido	68,899
Turquía	547,219	Francia	48,543	Polonia	88,383
Egipto	425,000	Grecia	79,349	USA	50,540
Irán	396,059	Países Bajos	35,681	Canadá	49,140
Chile	388,000	Jordania	25,206	UE(27)	35,988
Francia	347,476	Turquía	32,317	Bélgica	44,932
Argentina	290,774	Bélgica	13,639	Países Bajos	70,917
India	237,931	Lituania	17,102	Suiza	33,110
Brasil	216,236	Polonia	20,989	China	24,312
México	200,000	Alemania	13,442	Austria	31,939
Corea República	190,000	Sudáfrica	9,631	República Checa	33,715
Sudáfrica	157,808	China	39,993	México	24,817
Japón	150,700	Kirguistán	12,152	Portugal	35,931
Argelia	147,400	Australia	6,138	Ucrania	33,101
Corea Popular	147,095	Argentina	9,390	Lituania	19,960
Túnez	118,000	Marruecos	4,692	Suecia	21,826

En este sentido México ocupa el lugar 14 en producción y el 16 como importador con un volumen de 24,187 Ton., para el año 2009 lo que representa el 2% del comercio mundial de las exportaciones, muy similar a las 23,691 Ton., del año 2010. En ésta base de información, se determina que el costo pagado promedio ponderado por los países importadores fue de \$ 1,248 Dls/Ton., reportando como el pago más alto por la UE por \$2,044 Dls/Ton., el menor por Ucrania con \$ 877 Dls/Ton. México en el 2009 pago como promedio \$ 1,349 Dls/Ton.

Respecto a las importaciones (SIAP, 9 Diciembre, 2011) de Durazno que realiza México, éstas provienen de los USA y Chile, con un 19% y 81% respectivamente para el año 2010. Al mes de Septiembre del 2011, la cantidad total importada es de 19,767 Ton., provenientes de USA (25%) y Chile (75%).

7.2.3 Producción en México

Actualmente entre los estados que encabezan la producción de durazno está Sonora, Chihuahua y México a continuación se muestra en la tabla 2 la producción de mango de los estados de México

Tabla 2. Producción en México por estados. Situación al 30 de septiembre de 2013. Datos preliminares (SAGARPA, 2013)

Estado	Superficie (ha)			Producción (ton)	Rendimiento (ton/ha)
	sembrada	cosechada	siniestrada	obtenida	obtenido
AGUASCALIENTES	407	339		3,015	8.894
BAJA CALIFORNIA	2	1		4	4.5
COAHUILA	107	83		422	5.083
COLIMA	6	6		24	4
CHIAPAS	2,573	1,913		9,174	4.796
CHIHUAHUA	2,323	1,406	762	19,287	13.714
DISTRITO FEDERAL	40	32		147	4.515
DURANGO	770	514		1,288	2.505
GUANAJUATO	87	61	4	377	6.174
GUERRERO	1,494	1,202		5,789	4.817
HIDALGO	536	399	1	2,452	6.15
JALISCO	351	308		1,725	5.599
MEXICO	2,648	2,515		28,328	11.263
MICHOACAN	4,616	4,165	30	26,402	6.339
MORELOS	1,996	1,680		13,711	8.161
NAYARIT	250	249		1,898	7.614
NUEVO LEON	854	824		1,455	1.765
OAXACA	1,172	893		2,491	2.789
PUEBLA	3,881	3,263	120	15,483	4.746
QUERETARO	36	32	2	112	3.452
SAN LUIS POTOSI	104	88	10	133	1.506
SINALOA	33				
SONORA	224	212		2,995	14.149
TLAXCALA	1,474	1,226		595	0.486
VERACRUZ	239	229		2,117	9.246
ZACATECAS	12,133	3,482	207	5,447	1.564
TOTAL	38,357	25,124	1,136	144,873	5.766
REGION LAGUNERA	33				

7.2.4 Principales usos de durazno

La industria de los jugos en México está conformada por las empresas JUMEX, DEL VALLE, BOING y LALA. De las cuales JUMEX concentra el 31% del mercado (figura 3).

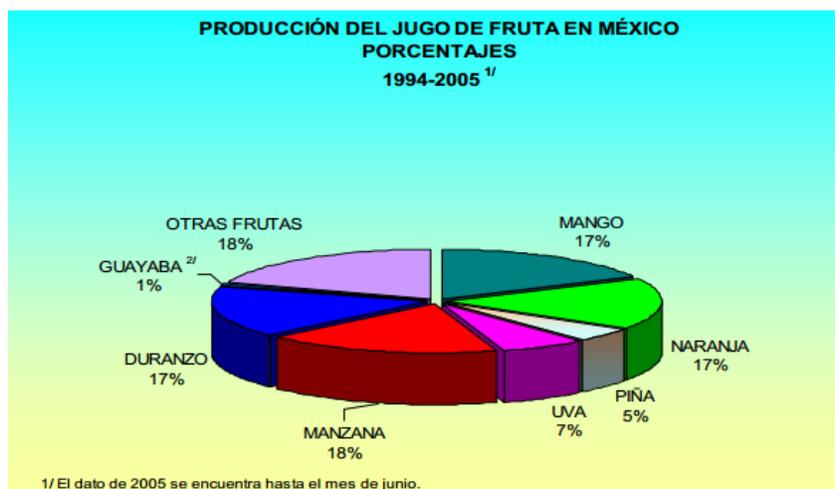
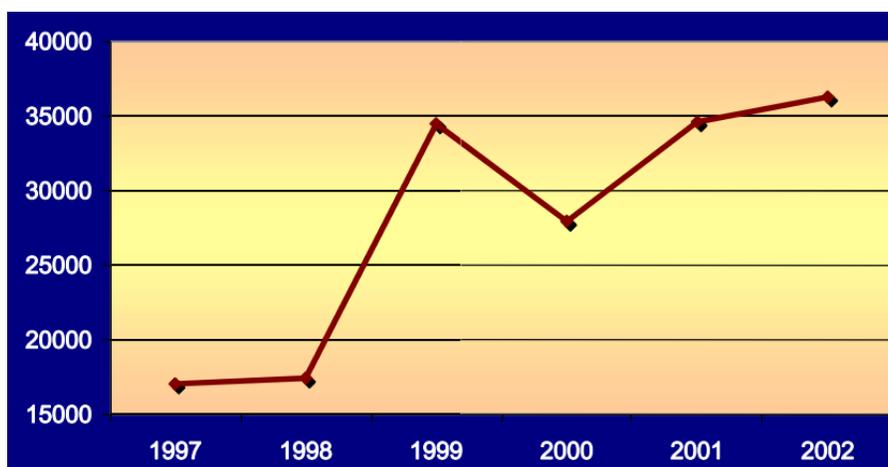


Figura 3. Producción de jugo de fruta

- Industria de almibares y mermeladas es otro campo de uso de este fruto tan solo en el 2002 exportó alrededor de poco mas de 3 000 toneladas



Gráfica 1. Fuente: elaborado con datos de: SAGARPA y Secretaría de Economía

- Yogurts y postres relacionados con este fruto.
- Al igual en las industrias cosméticas como son algunas cremas, champús, perfumes entre otro que aprovechan las propiedades de este fruto.

Todas estas áreas manejan lo que es la pulpa desechando en si las semillas que es lo que se puede aprovechar.

7.3 Fuentes vegetales de aceites

Las principales fuentes vegetales de aceite son las semillas y los frutos oleaginosos. La diferente composición y estructura de ambas condiciona el procesamiento al que se someten con el fin de extraer el aceite.

El proceso estándar de extracción a partir de frutos tales como la aceituna y la palta, consiste en un batido con agua caliente y posterior separación de las fases líquida, acuosa/oleosa, y sólida por distintos procesos como prensado o centrifugación.

El proceso de extracción a partir de semillas depende del tipo y estructura de las mismas. Con las de alto contenido en aceite (>20 % base seca) tales como el maní, el proceso clásico usado es la aplicación de una fuerza mecánica a fin de romper las paredes celulares del material vegetal de partida. El aceite es extraído por prensado, obteniéndose el aceite crudo y la torta del prensado, la cual retiene cantidades significativas de aceite residual. En muchos casos, esta torta es tratada posteriormente con solventes orgánicos para extraer este aceite remanente. Con las de bajo contenido graso (< 20 % base seca) tales como la soja, se emplea la extracción con disolventes orgánicos (hexano). Estos procesos tienen la ventaja de ser operaciones simples con costos de operación relativamente bajos. Sin embargo, presentan algunas desventajas. El capital inicial de instalación para el procesamiento es alto y los productos son crudos, de relativamente bajo valor, y requieren refinación antes de ser usados (Christensen, 1991). Por otro lado, este tipo de procesos involucran manipulación de grandes cantidades de solventes orgánicos, lo cual plantea problemas de seguridad y contaminación ambiental.

7.3.1 Origen y características de las plantas oleaginosas

Todas las especies de plantas producen alguna clase de aceite, pero existen algunas plantas que producen una cantidad considerable de aceite, a este grupo de plantas se les denomina oleaginosas, ya que de sus frutos o semillas se obtienen aceites alimenticios o industriales. Hace aproximadamente unos 4000 años que el hombre descubrió y empezó a extraer aceite de frutos y semillas oleaginosas, en la India, Turquía y Egipto, pasando posteriormente al mediterráneo en donde perfeccionaron el sistema para la trituration y prensado de la oliva.

En el siglo XVI, con la conquista del continente americano se inicia un intercambio de plantas oleaginosas por todo el mundo y se amplían las técnicas para la extracción y refinación de aceite además de diferentes formas de utilizarlo. Pero fue hasta finales del siglo XIX que la industria aceitera obtiene mejores resultados con el mejoramiento por hibridación de las plantas, mejoramiento de la tecnología agrícola y de extracción y refinación de aceites, permitiendo una mayor eficiencia en la obtención y diversificación de los usos y aplicaciones.

Algunas de las plantas oleaginosas más representativas son: algodón, ajonjolí, canola, girasol, soya, palma africana, Maní, cocotero, cártamo. En la tabla 3 se observa el contenido de aceite en cada una de las semillas oleaginosas.

Tabla 3. Contenido de aceite en las semillas oleaginosas

Producto/Semilla	Contenido de Aceite	Contenido de torta
Ajonjolí	47%	47%
Cártamo	35%	62%
Algodón	21%	48%
Copra	59%	36%
Girasol	38%	57%
Soya	17%	76%

7.3.2 Estructura de las oleaginosas

El principal rasgo característico de las células de las semillas oleaginosas es la existencia de organelos celulares llamados cuerpos lipídicos y proteínicos, las cuales contienen, respectivamente, la mayoría del aceite y de las proteínas del grano (Figura 4).

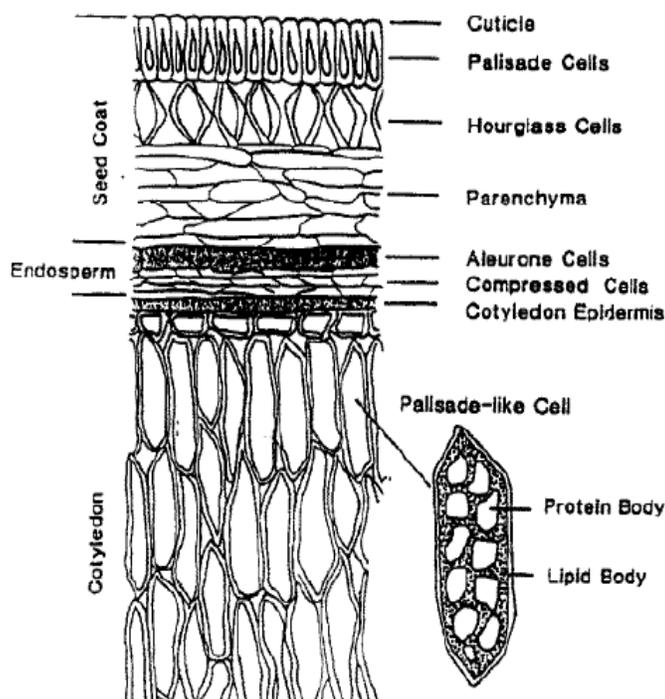


Figura 4. Estructura microscópica del cotiledón y endospermo de granos de soja

Los cuerpos proteicos varían de tamaño dependiendo de la semilla oleaginosa y también varían de tamaños en un amplio rango dentro de cada tipo de oleaginosa. En el caso de la soja, el cual es similar al caso del maní, el tamaño promedio de los cuerpos proteicos es entre 8 a 10 μm , pero también se reportan variaciones entre 2 y 20 μm (Rosenthal y col., 1996). Estos cuerpos proteicos contienen aproximadamente entre el 60 y el 70 % de la proteína total presente en las semillas oleaginosas.

Los cuerpos lipídicos (también conocidos como oleosomas o esferosomas) son el sitio principal de reserva de lípidos, no sólo en semillas oleaginosas sino también en frutos oleaginosos. Su tamaño frecuente oscila entre 1 a 2 μm , aunque varía desde 0,2 a 0,4 μm en el caso de la soja hasta tamaños tan grandes como 4 μm en el caso del algodón. En el caso de frutos oleaginosos como oliva, palta, y palma, los cuerpos lipídicos de almacenamiento son mayores a 20 μm . En este caso, el tejido que acumula la mayor parte de los lípidos de reserva es, normalmente, el mesocarpio (Zweytick y col., 2000).

Los análisis de microscopía electrónica han mostrado que los cuerpos lipídicos de oleaginosas como la soja y el maní están inmersos en una red citoplasmática, presumiblemente compuesta de proteína. Entonces, los espacios entre los cuerpos proteicos en las células del cotiledón están rellenos de cuerpos lipídicos y de la red citoplasmática (Rosenthal y col., 1996).

A diferencia del citoplasma que se caracteriza por la presencia de lípidos y proteínas, las paredes celulares que rodean la célula son compuestas de celulosa, hemicelulosa y lignina, además de pectina. En la extracción tradicional por solvente, el grano es laminado, lo cual causa ruptura de las paredes celulares; esto expone al aceite localizado en el interior de la célula y también facilita la percolación del solvente, dentro del cual el aceite puede difundir. Para el caso de la soja, el espesor promedio obtenido luego del laminado es de 0,25 mm. Considerando que las células del cotiledón de soja son de cerca de 15 a 20 μm de diámetro y de 70 a 80 μm de longitud, el tamaño resultante del laminado permite la ruptura de una alta proporción de células. Entonces durante la extracción con solvente, el aceite difunde hacia el solvente, mientras que la proteína se retiene en la harina junto con las fibras y los carbohidratos.

Los procesos acuosos también involucran la utilización de material molido, a fin de exponer y liberar más fácilmente el aceite y la proteína desde el material de partida.

En este caso, sin embargo, mientras los componentes solubles difunden dentro del agua, el aceite liberado forma una fase líquida separada o parcialmente emulsificada con el agua.

Los cuerpos lipídicos de semillas oleaginosas contienen abundante cantidad de proteína llamadas *oleosinas*, las cuales cumplen, como función principal, el rol de estabilizar estos cuerpos lipídicos. La estructura de la oleosina es generalmente la misma en todas las semillas; consiste en proteínas de bajo peso molecular, en el rango de 15.000 a 26.000 kD. La estructura puede ser dividida en tres dominios principales: un dominio anfipático cercano al amino terminal, el cual está probablemente asociado a la superficie del cuerpo lipídico, un dominio central hidrofóbico el cual contiene alrededor de 70 residuos de aminoácidos no polares en sucesión que podrían interactuar fuertemente con la matriz de triacilglicéridos y un dominio anfipático cercano al carboxilo terminal que interactúa con la superficie de la monocapa de fosfolípidos que rodea la matriz de los triglicéridos. Debido a su estructura particular, la oleosina juega un papel fundamental para mantener la

integridad de los cuerpos lipídicos durante la desecación que acompaña a la maduración de las semillas previniendo la interacción y la posible coalescencia (Zweytick y col., 2000).

A diferencia de las semillas, los cuerpos lipídicos de los frutos oleaginosos poseen cantidades insignificantes de oleosina. Esto se debe al hecho de que el mesocarpio no sufre desecación ni germinación y por lo tanto no requiere de pequeños cuerpos lipídicos estables (Zweytick y col., 2000). Las enzimas proteolíticas, por lo tanto, serían útiles para extraer aceite a partir de frutos oleaginosos. Por ello, la emulsión aceite-agua resultante tiende a ser menos estable en el caso de frutos que aquellas que provienen de semillas, lo que permite una separación más fácil del aceite.

Las diferencias en composición de las diferentes semillas oleaginosas determina la elección de las enzimas a usarse para cada semilla o fruto oleaginoso. Particularmente, en el caso de la soja, el alto contenido de proteína y el bajo contenido en aceite requiere el uso de enzimas proteolíticas para obtener altos rendimientos (Rosenthal y col., 1996).

Lípidos

Por definición, los lípidos son componentes biológicos que son solubles en solventes no polares como benceno, cloroformo y éter, y son prácticamente insolubles en agua. Consecuentemente, éstas moléculas son diversas tanto en lo referente a su estructura química como a su función biológica. Se distinguen en ellos los ácidos grasos, las grasas y aceites, los jabones, etc.

La denominación de “grasas y aceites” se refieren únicamente al estado físico sólido o líquido de este tipo de lípidos y no tienen ninguna relación con cualquier otra propiedad; la estructura y la química no varía (Alais y Linden, 1990)

7.4 Procesos de extracción

La separación de los aceites, a partir de productos oleaginoso vegetales, constituye una rama propia y especializada de la tecnología de las grasas. La diversidad de las características de los distintos productos grasos da lugar también a distintos procedimientos de extracción, tales como la fusión, el prensado y la extracción con solvente. Sin embargo, todos estos procedimientos tienden a los mismos fines, que son: primero, obtener el aceite sin alteraciones y desprovisto de impurezas; segundo, máximo rendimiento, de acuerdo con la economía del proceso; y tercero, conseguir un residuo o torta de máxima calidad.

La extracción de los aceites vegetales presenta dificultades, ya que las plantas y sobre todo, las semillas oleaginosas, contienen considerables cantidades de productos sólidos asociados con el aceite

Para separar eficazmente el aceite de los sólidos es necesario pulverizar cuidadosamente el material, seguido de un tratamiento de este y aplicación de elevadas presiones. (Bailey, 1998)

7.4.1 Extracción del aceite vegetal por prensado

Partiendo de la semilla limpia y lista para ser utilizada, el primer paso en la elaboración de aceites es la molienda o molturación de la semilla, la cual se realiza con molinos a martillos, cilindros o espolones. La finalidad de esta etapa es colapsar las estructuras vegetales para que el aceite sea liberado de la semilla.

Según las características del aceite, se puede plantear o no el refinado en tanques especiales de acero inoxidable.

Los pasos a seguir son los siguientes:

- Las semillas ya molidas pasan a un acondicionador donde se obtienen una masa homogénea.
- La masa pasa a una prensa de tornillo, que en un solo paso prensa la masa separando el aceite y dejando una "torta proteínica"
- El aceite pasa a un tamiz vibratorio con el fin de proceder a una primera etapa de filtración de grandes impurezas
- El aceite tamizado pasa a un filtro del que se obtiene el aceite crudo filtrado
- La torta proteínica puede generar un extra de aceite siendo sometida a extracción por disolventes, o puede también destinarse a producir alimento equilibrado para animales.

7.4.2 Extracción por disolventes

La extracción por disolvente se originó como un proceso en batch en Europa en 1870.

Los avances tecnológicos más rápidos se dieron luego de la 2da Guerra Mundial con el desarrollo de sistemas de extracción continua los cuales proveen un buen funcionamiento para materiales oleaginosos de bajos contenidos en aceite. Los procesos basados en extracción por solvente consisten, usualmente, en extracciones sucesivas del material oleaginoso previamente quebrado, laminado, molido o prensado, mediante lavados en contracorriente con hexano. Luego, la harina desengrasada es llevada a un tostador-desolventizador para recuperar el solvente. El hexano es removido del aceite en evaporadores de película y finalmente destilado a vacío.

El aceite crudo obtenido a partir de extracción por disolventes contiene cantidades variables y relativamente reducidas de impurezas que no son glicéridos. Algunas de las impurezas afectan la calidad del aceite para su uso comestible y por lo tanto es necesario eliminarlas. Las impurezas son de dos tipos generales: insolubles y

solubles en aceite. Las impurezas insolubles consisten en fragmentos de semillas, excedente de humedad y una fracción cerosa que hace que el aceite refrigerado se vea turbio. Las impurezas solubles en aceite son más difíciles de extraer. Incluyen ácidos grasos libres, fosfátidos, sustancias gomosas o mucilaginosas, cuerpos pigmentados, fracciones de proteínas, tocoferoles, esteroides, carbohidratos, cetonas y aldehídos. Estas impurezas pueden estar en una solución real o en suspensión coloidal. Algunas se encuentran en cantidades mínimas.

El propósito de las diferentes operaciones de procesos de refinación es de eliminar estas impurezas indeseables hasta el grado deseado con el menor efecto perjudicial sobre la calidad final del aceite y pérdidas mínimas de producto. Los procesos de refinación incluyen distintas operaciones.

La etapa de desgomado remueve los fosfolípidos y gomas mucilaginosas. La hidratación hace que la mayoría de los fosfátidos y gomas se vuelvan insolubles en el aceite por formación de geles que se aglomeran en forma de partículas floculadas.

Industrialmente, se precalienta el aceite a 80°C, se agrega el agua y se agita la mezcla durante 10 a 15 minutos en un tanque de retención y luego se centrifuga, eliminando la fase pesada que contiene las gomas y fosfolípidos hidratados

Los ácidos grasos, colorantes y prooxidantes metálicos se eliminan en distinta medida durante el proceso de neutralización. El tratamiento alcalino, casi siempre con hidróxido de sodio (NaOH), produce reacciones químicas y cambios físicos en el aceite. La base se combina con los ácidos grasos libres del aceite para formar jabones, los fosfolípidos y las gomas absorben la base y se coagulan por hidratación o degradación, una parte de la materia colorante es degradada, adsorbida por las gomas o solubilizada en el agua y las materias insolubles son atrapadas por los demás materiales coagulables. Se adiciona la base, en concentración y cantidad calculada, y se agita en una mezcladora de altos esfuerzos cortantes para asegurar el contacto íntimo entre las fases. La mezcla de aceite y jabón se centrifuga en caliente, a 80 °C aproximadamente, para separar fases. La fase liviana, que contiene el aceite, se lava con agua y se vuelve a centrifugar para eliminar los residuos de jabón.

El aceite aún contiene cuerpos de color, olores y diferentes impurezas que deben removerse para que posea sabor y color aceptables para el consumidor. Algunas de estas impurezas se reducen por medio de un proceso llamado blanqueado.

Industrialmente, se lleva a cabo mezclando el aceite con un agente adsorbente a 110 °C, aproximadamente. Luego se rocía la mezcla en una torre de blanqueo que opera a vacío y por último, el aceite se filtra para eliminar la tierra adsorbente que retiene las impurezas (Mustakas, 1980).

7.4.3 Extracción AEP

Los procesos de extracción acuosa (AEP, por sus siglas en inglés) fueron sugeridos originalmente como una alternativa a los procesos de extracción por

solvente en la década de los 50'. Fueron pensados por ser seguros y de bajo costo.

Además, sería posible la recuperación simultánea de aceite y proteína (concentrada o aislada) a partir de materiales oleaginosos (Cater y col., 1974).

AEP utiliza un principio muy diferente comparado con los procesos de extracción por solvente, los cuales son basados en la capacidad del aceite de disolverse y ser extraído por el solvente. En AEP, el aceite no posee alta afinidad química por el medio de extracción y, consecuentemente, no hay potencial químico para la disolución del aceite.

La extracción de aceite por AEP esta, consecuentemente, basada más en la insolubilidad del aceite en agua que en la disolución del aceite. En este caso, los componentes de las oleaginosas solubles en agua difunden en el agua más rápidamente que el aceite, liberando aceite que previamente estaba enlazado a la estructura original.

AEP utiliza el mismo principio que la flotación en agua caliente. El proceso involucra mezclado, molienda y descascarado de semillas oleaginosas en agua caliente y la separación del aceite en la superficie. El método de flotación en agua caliente para extraer aceites comestibles a partir de oleaginosas es un método tradicional usado en áreas rurales de muchos países en desarrollo. El proceso es acompañado de cinco pasos principales: 1) acondicionamiento con calor de las semillas, 2) molienda, 3) extracción por ebullición, 4) recuperación de aceite y 5) secado. Tradicionalmente, la molienda es llevada a cabo por aplastamiento en molinos. Las semillas molidas son calentadas en agua para liberar el aceite, el cual flota sobre la superficie. El aceite es cuidadosamente removido de la superficie del agua y secado para remover humedad residual (Rosenthal y col., 1996).

Estudios posteriores que han resultado ser viables en la extracción del aceite de diferentes semillas oleaginosas son aquellos que involucran el uso de enzimas.

7.5 Enzimas

Las enzimas son proteínas que catalizan todas las reacciones bioquímicas. Además de su importancia como catalizadores biológicos, tienen muchos usos médicos y comerciales.

Un catalizador es una sustancia que disminuye la energía de activación de una reacción química. Al disminuir la energía de activación, se incrementa la velocidad de la reacción.

La mayoría de las reacciones de los sistemas vivos son reversibles, es decir, que en ellas se establece el equilibrio químico. Por lo tanto, las enzimas aceleran la

formación de equilibrio químico, pero no afectan las concentraciones finales del equilibrio.

Así mismo, las enzimas son de interés práctico. El comercio de las enzimas son de interés práctico. El comercio de las enzimas para uso industrial y domésticos asciende a centenares de millones de dólares anualmente en todo el mundo. Las enzimas industriales se utilizan en la producción de productos químicos y farmacéuticos cuyo costo es de miles y millones de dólares.

7.5.1 Clasificación de las enzimas

- 1. Oxidorreductasas.** Son aquellas enzimas que catalizan las reacciones de oxidorreducción, o sea, la transferencia de electrones o sus equivalentes entre un donante y un aceptor. Pueden ser:
 - Deshidrogenasas: Separan átomos de hidrógeno del sustrato.
 - Oxidasas: Oxidan el sustrato al aceptar sus electrones.
 - Otras más son oxigenasas, reductasas, peroxidasas, e hidroxilasas.
- 2. Transferasas.** Catalizan la transferencia de un grupo químico entre un donante y un aceptor; se excluyen aquéllas que transfieren electrones o sus equivalentes, pues pertenecen a la clase anterior, y aquéllas en que el aceptor del grupo es el agua, pues pertenecen a la clase siguiente. Ejemplos de tales grupos incluyen amino, carboxil, carbonil, metil, fosforil, y acil ($RC=O$). Nombres triviales comunes para este tipo de enzimas incluyen frecuentemente el prefijo trans. Algunos ejemplos son, transmetilasas, transaminasas y transcarboxilasas.
- 3. Hidrolasas.** Catalizan la ruptura hidrolítica de enlaces químicos C-O, C-N, C-C, P-O, con la participación de las moléculas del agua. Las hidrolasas incluyen a las esterasas, fosfatasas, glucosidasas, lipasas y peptidasas.
- 4. Liasas.** Catalizan reacciones en las cuales se produce la adición o sustracción de grupos químicos (ejemplo H_2O , CO_2 , y NH_3) a dobles enlaces o para formar dobles enlaces. Decarboxilasas, hidratasas, deshidratasas, deaminasas, y sintasas son ejemplos de liasas.
- 5. Isomerasas.** Este es un grupo heterogéneo de enzimas. Las isomerasas catalizan varios tipos de rearrreglos intramoleculares que llevan ese nombre. Las epimerasas catalizan la inversión de carbonos asimétricos. Las mutasas la transferencia intramolecular de grupos funcionales.
- 6. Ligasas.** Las enzimas de este grupo conocidas como sintetetasas, acoplan la hidrólisis de un pirofosfato del ATP u otro nucleosido trifosfato a una segunda reacción en la cual se unen dos moléculas. Por ejemplo, un RNA

ligasa formara un nuevo enlace fosfodiéster a medida que une a dos fragmentos de RNA, una reacción que resulta en la hidrólisis de ATP (Conn & Stumpf, 2005).

7.5.2 Factores que influyen en la velocidad de las reacciones enzimáticas

Temperatura: Un aumento en la temperatura provoca un aumento de la velocidad de reacción hasta cierta temperatura óptima, ya que después de aproximadamente 45°C se comienza a producir la desnaturalización térmica. Las enzimas de muchos mamíferos tienen una temperatura óptima de 37°C, por encima de esa temperatura comienzan a inactivarse y se destruyen. Sin embargo existen especies de bacterias y algas que habitan en fuentes de aguas termales y en el otro extremo ciertas bacterias árticas tienen temperaturas óptimas cercanas a 0°C.

Efecto del pH sobre la actividad enzimática: El pH no afecta la actividad enzimática directamente sino que modifica la concentración de protones. Los protones además de alterar la estructura de la enzima y el sustrato, pueden participar también en la reacción como sustrato o producto. En esos casos, la concentración de protones afecta directamente la velocidad de la reacción.

Cualquier cambio brusco de pH, sabiendo que las enzimas son proteínas, puede alterar el carácter iónico de los grupos amino y carboxilo en la superficie proteica, afectando así las propiedades catalíticas de una enzima. A pH alto o bajo se puede producir la desnaturalización de la enzima y en consecuencia su inactivación.

Enzimas (pH óptimo): Pepsina (1,5); Tripsina (7,7); Catalasa (7,6); Arginasa (9,7); Ribonucleasa (7,8)

7.5.3 Reacciones de hidrólisis enzimática

Hidrólisis enzimática

Se entiende por hidrólisis enzimática la hidrólisis que se produce mediante un grupo de enzimas llamadas hidrolasas. Estas enzimas ejercen un efecto catalítico hidrolizante, es decir, producen la ruptura de enlaces por agua según: $H-OH + R-R' \rightarrow R-H + R'-OH$. Se nombran mediante el nombre del sustrato seguido de la palabra hidrolasa, y cuando la enzima es específica para separar un grupo en particular, éste puede utilizarse como prefijo. En algunos casos este grupo puede ser transferido por la enzima a otras moléculas y se considera la hidrólisis misma como una transferencia del grupo al agua. A veces suele utilizarse el nombre común de la enzima, por lo que muchas veces el sufijo -asa, nos indicará generalmente que se trata de una hidrolasa. Por ahora no ha sido posible encontrar una nomenclatura sistemática para todas las péptido-hidrolasas, por lo que hoy en día, para las nuevas enzimas, su nombre se forma según: fuente de

péptida hidrolasa seguida, si es necesario, de una letra para distinguirla de otra enzima.

Hidrólisis

Es una reacción química entre una molécula de agua y otra molécula, en la cual la molécula de agua se divide y sus átomos pasan a formar parte de otra especie química. Esta reacción es importante por el gran número de contextos en los que el agua actúa como disolvente.

7.5.4 Reacciones de hidrólisis enzimática en las células oleaginosas

Las celulasas son proteínas obtenidas de procesos naturales de fermentación capaces de degradar la celulosa. Se encuentran formado un complejo enzimático que actúa de forma sinérgica en la degradación de la celulosa y que está conformado por tres tipos de enzimas: endoglucanasa o endocelulasa (1,4- β -D-glucan glucanohidrolasa), exoglucanasa o celobiohidrolasa (1,4- β -D-glucan celobiohidrolasa) y β -glucosidasa o celobiasa (β -D-glucósido glucohidrolasa).

El mecanismo de hidrólisis catalítica mediante el cual ocurre la reacción de degradación de la celulosa a glucosa por parte de los componentes de las celulasas que producen la ruptura del enlace β -1,4-glicosídico del polímero celulósico, se presenta en la Figura 4.

Durante la primera etapa de la reacción, las endoglucanasas hidrolizan los enlaces internos del polímero de celulosa específicamente en las regiones amorfas o en la superficie de las microfibras, produciendo oligosacáridos de menor peso molecular, celodextrinas y celobiosa. Posteriormente las exoglucanasas inician la hidrólisis en los extremos no reductores de la cadena, presentando una alta actividad por la celulosa amorfa para producir celobiosa y finalmente las β -glucosidasas completan la degradación de la celulosa catalizando la hidrólisis de celobiosa a glucosa (Wood, 1989).

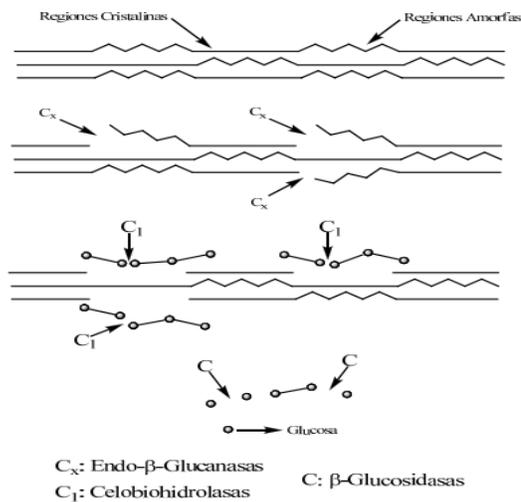


Figura. 4. Mecanismo de hidrólisis enzimática de la celulosa (Nidetsky y col. 1993).

En cuanto a las reacciones de hidrólisis llevadas a cabo por las enzimas proteolíticas en las células de semillas oleaginosas están relacionadas con la hidrólisis de la membrana de los cuerpos lipídicos, los cuales están conformados por un tipo de proteínas de bajo peso molecular (1500-2600 Da) llamadas oleosinas que son las principales responsables de mantener la integridad de los cuerpos lipídicos durante el proceso de maduración de las semillas oleaginosas.

7.5.5 Estudios sobre la extracción de aceite de durazno

Como es una novedad al menos en este subproducto del durazno, la almendra son pocos los que han incursionado con este producto tal es el trabajo de Londoño y col. (2012) con su trabajo llamado REFINACIÓN DEL ACEITE CRUDO DE DURAZNO (*Prunus pérsica*) Y SU CARACTERIZACIÓN, realizado en la Facultad de Ingeniería. Escuela de Ingeniería Química. Valencia-Venezuela (Tabla 4).

Tabla 4 Porcentaje de aceite extraído por solvente de la almendra del durazno

Tamaño de la Partícula (mm)	Tiempo de Extracción (h)	Masa de la almendra (g)	Porcentaje de aceite extraído (Pa±0,6)%	Promedio (%)
0,8509	3	2	52,4	52,7
			52,9	
	3	5	51,1	51,3
			51,4	
	5	2	51,3	51,5
			51,6	
5	5	51,7	53,2	
		54,6		
0,7112	3	2	55,8	56,2
			56,6	
	3	5	56,1	56,3
			56,4	
	5	2	52,2	52,7
			53,2	
	5	5	53,3	52,9
			52,4	

(Londoño y col., 2012)

7.5.6 Estudios sobre la extracción de aceite vegetal con enzimas

En los últimos años el uso de enzimas de tipo celulolíticas y proteolíticas para mejorar la extractabilidad del aceite en diferentes semillas ha incrementado notoriamente, aplicándose este tipo de tecnología a la extracción de aceite en varias semillas y frutos oleaginosos como se pueden observar en los siguientes trabajos:

- **Rosenthal y col.** (2001) implementaron la extracción acuosa enzimática de aceite y proteína de soya, para este fin, evaluaron diferentes celulasas y

proteasas comerciales, encontrando que las proteasas son las únicas que muestran un incremento significativo en la eficiencia de extracción del aceite de 48,5 a 58,7%, las condiciones fueron las siguientes: la concentración de enzima : 0,1 , 0,45 , 2 w / w % , el tamaño medio de partícula : 212.5 , 449.5 , 855 m; el tiempo de hidrólisis : 30 ; 60 ; 120 min.

- **Sharma, (2002).** En este trabajo se utilizó la extracción acuosa asistida por la enzima. En la consistía en extraer el aceite de cacahuate bajo condiciones óptimas utilizando la enzima Protozyme. Las condiciones óptimas fueron: concentración de la enzima de 2,5% (w / w) en 10 g de semillas de maní, de pH 4,0, 40 ° C, y 18 h de incubación con agitación constante a 80 rpm. Para la separación se utilizó centrifugación se recuperó de 86-92%.
- **Najafian y col. (2009)** emplearon las enzimas industriales Pectinex Ultra SP-L y Pectinase-16021 a concentraciones bajas de 0.24-0.25 %, para incrementar la eficiencia en el proceso de extracción acuosa de aceite de oliva virgen de 0,9 a 2,4%; mientras que Jiang y col. (2009) publicaron el uso de una proteasa alcalina en la extracción de aceite de maní para mejorar a eficiencia de la extracción y obtener un hidrolizado rico en proteínas que son de gran interés en la industria de alimentos.
- **Guerra, y col. (2003).** Analizaron el efecto de la incorporación de enzimas sobre el rendimiento de extracción de aceite de pipa de uva por prensado en frío. Con el prensado en frío se busca preservar los compuestos activos de la pipa de uva y minimizar el impacto medioambiental en comparación con los métodos convencionales de extracción de aceite que utilizan altas temperaturas. La enzima utilizada fue Ultrazym y con un rendimiento de extracción de aceite del 72% b.s. se logra con un pre-tratamiento enzimático durante 4 horas a 50°C, y 60% de humedad.
- **Durán, (2010).** Se encontró que el uso de la enzima Flavourzyme ® en el proceso de extracción del aceite de la torta de palmiste, permitió aumentar el rendimiento de extracción en un 6,33%, lo que equivale a aumentar la eficiencia del proceso de palmistería en un 12,04%. La máxima eficiencia de extracción con Flavourzyme ® (76,66%) se alcanzó usando una concentración de sustrato de 34%, de enzima 10% en un tiempo de 4h.
- **Xie y col., (2011).** La extracción de aceite de germen de trigo se evaluó con las siguientes enzimas Viscoenzyme L, Multifect CX 13L, Multifect CX GC y Alcalasa 2.4L FG. Basándose en los resultados experimentales, el más alto rendimiento de aceite, 66,5% (W / W) utilizando la enzima Alcalasa

2.4 L, bajo las siguientes condiciones; líquido relación sólido / 16,5, concentración de enzima 1,1% y el tiempo de extracción 19,25 h.

- **Verónica**, (2013). Se evaluó la influencia del tratamiento enzimático sobre el transporte difusivo que ocurre durante la extracción del aceite determinando experimentalmente coeficientes de difusión para cada sólido. El tratamiento enzimático para alcanzar el máximo rendimiento de aceite se obtuvo por incubación con una mezcla enzimática con actividades enzimáticas celulasa, proteasa neutra, α -amilasa, pectinasa, hemicelulasa y glucoamilasa. Para cada experimento se utilizaron 500 mg, para las preparaciones enzimáticas sólidas y 500 μ L, para las preparaciones enzimáticas líquidas, de cada una de la o las actividades empleadas en cada ensayo individual. La optimización de variables determinó incubación a pH 5,4 y 38°C durante 9,7 h para laminado de soja y a pH 5,8 y 43,5°C durante 5,8 h para expandido de soja. Se obtuvieron rendimientos de aceite mayores: 27,59 % y 26,64 % para laminado y expandido hidrolizados, respectivamente.

7.5.7 Enzimas comerciales evaluadas y condiciones de reacción.

Enzima	Actividad	pH	Temperatura, (°C)
Celluclast	Celulasa, celobiohidrolasa	5.0	55
Cellubrix	Celulasa y celobiohidrolasa	4.8	40
Viscozyme	Arabanasa, Celulasa, β -glucanasa, Hemicelulasa, Xilanasa y Pectinasa	5.0	50
Flavourzyme	Proteasa	5.0	50
Viscozyme y Flavourzyme 50:50	Arabanasa, Celulasa, β -glucanasa, Hemicelulasa, Xilanasa y Pectinasa, Proteasa	5.0	50

Tabla 5. Enzimas comerciales

Viscoenzyme L:

Esta enzima contiene una variedad de carbohidrasas (arabanasa, celulasas, xilanasas, hemicelulasa, β -glucanasa), y tiene una actividad declarada de 100 FBG / g. Un FBG es la cantidad de enzima que libera glucosa o reduce el azúcar equivalente a 1 mmol de glucosa β -glucanos a pH 5 y 30°C en 1 minuto. Las condiciones óptimas para la actividad de esta enzima son pH 3.3-5.5 y la temperatura de 40-50°C (Xie y col., 2011).

8. DESARROLLO EXPERIMENTAL

Materiales y Metodología

Reactivos:

Los reactivos empleados fueron hexano y la enzima utilizada fue Viscozyme L.

Materia prima

La materia prima utilizada fue la semilla del durazno (*Prunus pérsica*), obtenido del mercado local, únicamente se usaron las semillas. De un lote de 13 Kg de durazno, quedaron 1.18 Kg de semilla.

Tratamiento de la materia prima

Los desechos generados en el proceso de despulpado están constituidos por, la semilla del durazno, concha o piel y los restos de pulpa que no fueron desmenuzadas. Estos desechos se colocaron en un recipiente con agua para separar con mayor facilidad los restos de pulpa (mesocarpo) adheridos a la semilla.

Secado de las semillas

Las semillas fueron esparcidas en lugar abierto y expuestas al sol durante dos días, para disminuir la humedad y facilitar la obtención de la almendra. Después que las semillas quedaron completamente secas, se colocaron en envases bien limpios y se taparon inmediatamente para así evitar la contaminación por cualquier agente externo como, insectos o moscas. Posteriormente éstos fueron colocados a temperatura ambiente.

Obtención de la almendra de durazno

Una vez secas las semillas, se realizó la separación manual utilizando un instrumento que le cause presión o golpes como lo es un martillo se colocó la semilla fija en un lugar seguro y firme, luego se procedió a golpear hasta fracturar el hueso de la semilla y así separar la almendra del endocarpio. En total se obtuvo 80 g de almendra.

Molienda

La almendra se sometió a una reducción de tamaño. El procedimiento se realizó en un molino mecánico de disco marca ARISA, hasta obtener partículas finas y tener más área de reacción.

8.1 Extracción de aceite con enzimas

Pretratamiento de la muestra

En cada matraz Erlenmeyer de 250 mL se colocaron 10 g de harina de la almendra y se hidrataron con agua destilada en una relación 1:2, por lo menos un día antes de la digestión con la enzima, para obtener mejores resultados.

Adición de la enzima

En este punto se agregó la enzima Viscoenzyme L en las siguientes concentraciones 0.2 %, 0.8% y 1.2 % y cada experimento se hizo por duplicado. No hubo modificación del pH ya que la muestra con la enzima tienen un pH 5.

Incubación con enzima

Los matraces fueron puestos en agitación en un baño termostático provisto con agitación magnético a 200 rpm durante 4 horas a una temperatura de 45° C.

Inactivación de la enzima

Después de la incubación, la enzima debe de ser inactivada y se procedió de la siguiente manera se puso agua en ebullición y se metió cada matraz por 15 min y luego por un baño de hielo a través del choque térmico, se trató de inactivar las enzimas.

Centrifugación

Se procedió a centrifugar la muestra pero antes se le agregaron 3 mL de hexano para facilitar su extracción ya que por la cantidad de fibra el aceite queda retenido, posteriormente la muestra se transfirió a tubos de centrifugación con tapa de rosca y fondo cónico de 50 mL de capacidad y se llevó a centrifugación a 4000 rpm a una temperatura de 8°C durante 20 minutos.

Recuperación del aceite

Después de la centrifugación ya se puede observar las fases por la densidad y se separa de manera física por decantación, pero no es el porcentaje total ya que la torta aun tiene aceite a lo que se le procede agregar 1 mL de hexano y se centrifuga y una vez obtenido el aceite, el solvente se recupera por evaporación en un evaporador y se deja por 4 días hasta que no se perciba más solvente. Después del tiempo transcurrido se recupera el aceite de cada muestra.

8.2 Métodos de análisis

Extracto etéreo

Se colocaron 4 g de la muestra sólida seca libre de humedad en el cartucho de papel de filtro y se pesaron. Después se colocó una pieza de algodón en la boca abierta del cartucho, a fin de distribuir el goteo del solvente. Se agregó un volumen de hexano de 100 mL en el balón de destilación previamente tarado.

Se armó el equipo y se calentó el hexano sobre una placa eléctrica. Se mantuvo el goteo de solvente a una velocidad ≥ 150 gotas por minuto durante 6 h. Posteriormente se destila el hexano contenido en el matraz balón. Se completó la eliminación del disolvente por medio de un rotavapor el aceite y el disolvente. El contenido graso se calcula según:

$$\% \text{ Contenido graso} = \frac{(P_2 - P_1)100}{P_M}$$

Donde P1 = peso en g del balón de destilación empleado, P2 = peso del balón en g conteniendo el extracto y PM = peso en g de la muestra (Horwitz, AOAC, 1998).

Humedad

Para la medición de la humedad se siguió el método A.O.A.C. Se pesaron entre 1 y 2 g de muestra, se calentaron a 105°C hasta lograr peso constante. La muestra se dejó enfriar en el desecador y finalmente se pesó para calcular el contenido de humedad.

9 DIAGRAMA DE FLUJO



10 RESULTADOS:

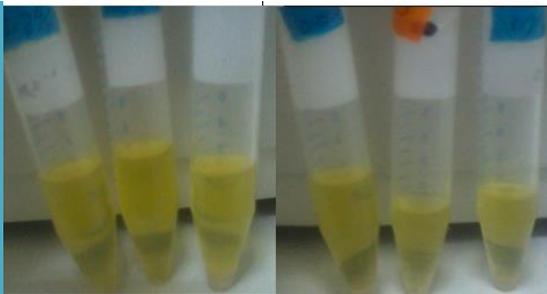
Extracción del aceite con tratamiento enzimático

Tabla 6

Muestras	Concentración de enzima (%)	Rendimiento obtenido (%)		Promedio por concentración
		1ª. Filtración	2ª. Filtración	
1	0.2	23	38	38.5 %
2		25	39	
3	0.8	19	33	34 %
4		22	35	
5	1.2	14	25	26 %
6		18	28	

Tabla 6.1. Características del aceite obtenido

Característica	Descripción
Olor	El olor característico de la almendra se mantuvo un olor dulce.
Color	El color de todas las muestras fue color ámbar claro.



Extracción del aceite obtenido por disolvente

Tabla 7. Análisis de la muestra

Análisis	Resultado
Extracto etéreo	37.5 %
Humedad	6.23 %

Tabla 7.1. Características del aceite obtenido por disolvente

Característica	Descripción
Olor	En este caso se perdió el olor quedo inodoro.
Color	El color fue el mismo con las muestras pasadas, color ámbar claro.
	Matraz con el aceite resultante

11 DISCUSIÓN

Como se pudo observar en los resultados en la tabla 6, con la concentración de enzima que se obtuvo mejor rendimientos fue la que se utilizó de 0.2 % que fue un rendimiento promedio de 38.5 %, las otras muestras aun teniendo mayor concentración de enzima mostraron un rendimiento bajo en las concentraciones de 0.8 % y 1.2 % tuvieron un rendimiento del 34% y 26% de aceite esto se debe a un sistema de control bioquímico llamado inhibición por retroalimentación o inhibición por producto final.

Cuando el producto acumulado en una célula sobrepasa una cantidad óptima, este disminuye su propia producción inhibiendo la enzima implicada en su síntesis. En muchas vías anabólicas el producto final puede inhibir en forma alósterica la actividad de una de las enzimas que catalizan la reacción más temprana de la misma vía metabólica. (Tortora y col, 2007). Una vez que el producto es usado o descompuesto, cesa la inhibición y se reanuda la formación del producto, pero requiere de tiempo tal proceso por el cual no se obtuvo más producto final y al reanudarse la formación del producto ya habían pasado el tiempo de tratamiento enzimático y se procedió a la inactivación por temperatura (Garrido y col., 2006).

También al comparar la tabla 6 y la tabla 7 podemos ver que el rendimiento con solvente es menor ya que obtuvo 37.5 % más en comparación con la tratada enzimáticamente que fue de 38.5 %, durante la extracción con solvente, el aceite difunde hacia el solvente, mientras que la proteína se retiene en la harina junto con las fibras y los carbohidratos. (Bailey, 1998). No obstante en los resultados de Gian Franco obtuvo un porcentaje de 43,56% y es superior a lo obtenido en este trabajo esto se debe al tipo de tratamiento con solvente que le dio así también como la variedad del durazno utilizado.

Por último al revisar las tablas 6.1 y 7.1 al observar algunas de sus características encontramos similitud en cuanto a color, pero el olor se fue por motivo de la extracción del solvente ya que elimino la mayoría de los compuestos aromáticos, parte contraria por parte del tratamiento ya que esta conservo su aroma.

12 CONCLUSIÓN

- El uso de la enzima Vicoenzyme L, permitió obtener resultados bastantes favorables y ver la efectividad que tiene.
- El uso de hexano fue bastante limitado ya que con tratamiento enzimático se utilizo 4 mL a comparación de la extracción con solventes que se uso 120 mL de hexano, y al ver esto se puede decir que no requiere de grandes concentraciones tanto de enzima y de solvente para el tratamiento enzimático.
- Se obtuvo mayor rendimiento de aceite al compararla con la extracción etérea con puro solvente, dándole ventaja al tratamiento empleando enzimas y ver su mayor eficacia.
- El mayor rendimiento de aceite fue de 38.5 % con tal solo una concentración de 0.2 %, a una temperatura de 45° C.
- Se concluye también diciendo que no se necesita tanta concentración de enzima y más adelante considerar cual sería la concentración óptima de la enzima.
- Con el tratamiento enzimático algunas de sus propiedades como el olor se retuvo en el aceite final, dando esto una ventaja considerable con la extracción con solventes quien no retiene los aromas.

13 RECOMENDACIONES

Se recomienda hacer las caracterizaciones del aceite para buscar su campo de aplicación.

En el caso de las enzimas probar con otras enzimas o hacer mezclas de estas, para obtener mejores resultados.

14 BIBLIOGRAFIA

- Alais C. I G. Linden (1990) Manual de Bioquímica de los Alimentos. Ed. Masson S.A., Barcelona
- Arteaga D. Gustavo. El durazno. 1996
- Bailey, A. E. (1998). *Aceites y grasa industriales*. (pp. 423-427). Barcelona, España: Editorial Reverté, S. A.
- Cater, C.M.; K.C. Rhee; R.D. Hagenmaier and K.F. Mattil (1974) – Alternativa de extracción acuosa en molienda de semillas oleaginosas. *JAOCS*, **51**, 137
- Christensen, F.M. (1991) – Extraction by aqueous enzymatic process. *INFORM*, **2**, 984.
- Conn, E. E., & Stumpf, P. K. (2005). *Bioquímica fundamental*. (4a ed.). México: editorial LIMUSA.
- Duran O., J. F. (2010). *Aplicación de enzimas en el proceso de extracción de la torta de palmiste*. (Master's thesis, Universidad Industrial de Santander).
- Enríquez L. J. Manejo del Arbol del durazno. Primer Simposio Regional de Productores de Tlaxcala. 1997
- Garrido P., A., & Teijón R., J. M. (2006). *Fundamentos de bioquímica estructural*. (2nd ed.). Madrid, España: Editorial Tébar.
- Guerra, E. G., & Zúñiga, M. E. (2003). Tratamiento enzimático en la extracción de aceite de pipa de uva, *vitis vinifera*, por prensado en frío. In *Grasas y Aceite* (Vol. 54). Valparaíso, Chile: Escuela de Ingeniería Bioquímica, Universidad Católica de Valparaíso.
- Horwitz, W (1998) – *Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemist's*. 16th Edition, Wisconsin, USA.

- Legáz B., R. (2010). *Estudio de la viscosidad y densidad de diferentes aceites para su uso como biocombustible*. (Unpublished doctoral dissertation).
- Londoño, P., Mieres, A., & Hernández, C. (2011). Extracción y caracterización del aceite crudo de la almendra de durazno *Prunus pérsica*. (Master's thesis), Facultad de Ingeniería, Universidad de Carabobo, Venezuela.
- Mustakas, G.C. (1980) - La recuperación de aceite de soja. En: Manual de aceite de soja Procesamiento y Utilización (Erikson, D.R. Ed.) St. Louis, USA: American Soybean Association and American Oil Chemist's Society.
- Najafian, L., Ghodsvali, A., Haddad, M.H., & Diosady, L.L. (2009). Aqueous extraction of virgin olive oil using industrial enzymes. *Food Research International*, 42, 171–175
- Rosenthal, A.; D.L.Pyle and K. Niranjana (1996) – Aqueous and Enzymatic Extraction of Edible Oils from Oilseeds. *Enzymes and Microbiol. Tech.*, **19**, 401.
- Rosenthal, A., Pyle, D.L., Niranjana, Gilmour, K.S., & Trinca, L. (2001). Combined effect of operational variables and enzyme activity on aqueous enzymatic extraction of oil and protein from soybean. *Enzyme and Microbial Technology*. 28, 499–509.
- Sanchez, J. M. (2007). *Árboles ornamentales*. (2nd ed.). Barcelona, España: Mundi-Prensa.
- Sharma, A., Khare, S. K., & Gupta, M. N. (2002). Enzyme-assisted aqueous extraction of peanut oil. In *JAOCS* (Vol. 79). New Delhi, India: Copyright.
- Tortora, G. F., Funke, B. R., & Case, C. L. (2007). *Introducción a la microbiología*. (9a ed.). Buenos Aires, Argentina: Editorial Médica Panamericana.
- Verónica Grasso, F. (2013). *Diseño del proceso: Pretratamiento enzimático para extracción de aceites vegetales en un extractor de columna*. Manuscript submitted for publication, Departamento de Ingeniería Química Facultad de Ingeniería Universidad Nacional de La Plata .

- Wood, T.M. (1989). Mechanism of cellulose degradation by enzymes from aerobic and anaerobic fungi. In: Coughlan, M.P. (Ed). Enzyme systems for lignocellulose degradation, London. 17-35.
- Xie, M., Turgut, N., & Goad, C. (2011). *Enzymatic extraction of wheat germ oil*. Manuscript submitted for publication, Department of Biosystems and Agricultural, Engineering, Oklahoma, US.
- Zweytick, D.; K. Athensteadt y G. Daum (2000) – Intracellular lipid particles of eukaryotic cells. *Biochimica et Biophysica Acta*, **1469**, 101.

Páginas web consultadas:

http://www.siap.gob.mx/index.php?option=com_wrapper&view=wrapper&Itemid=22

http://bibliotecadigital.ilce.edu.mx/sites/ciencia/volumen3/ciencia3/146/htm/sec_5.htm

http://datateca.unad.edu.co/contenidos/232015/2013_232015/Modulo_232015/leccion_8_composicion_quimica_de_las_grasas_y_aceites.html

15 ANEXOS

Determinación del porcentaje de aceite.

Concentración	g obtenidos por cada 10g
0.2	3.8
0.2	3.9
0.8	3.3
0.8	3.5
1.2	2.5
1.2	2.8

Cálculos del porcentaje de extracto etéreo

$$\% \text{ Contenido graso} = \frac{(P_2 - P_1) \cdot 100}{P_M}$$

$$\% \text{ cantidad de grasa} = \frac{(107.5 - 106.5) \cdot 100}{4g}$$

$$= 37.5 \%$$

Diagrama de flujo extracción de grasa método Shoklet

