

Efecto de tratamientos enzimático, microondas y ultrasonido en la extracción de grasa de semilla de dos variedades de mango: Kala Alphonso y Mariquita, Provenientes del banco de germoplasma del centro de investigación Corpoica sede Nataima

Effect of enzymatic, microwave and ultrasound treatments of fat seed of two mango varieties 'kala alphonso' and 'mariquita' coming from the genoplasm bank of Corpoica Research Center, Nataima's office

Lizza Rodríguez^I, Angélica Sandoval Aldana^{II}, Jorge Valencia^{III}.

Resumen

Se evaluó el efecto de los tratamientos de ultrasonido, microondas y enzimático como procesamiento previo al método por prensado para aumentar el rendimiento de extracción de la grasa de semilla de mango. Se trabajaron dos variedades de mango Kala Alphonso y Mariquita. Las muestras fueron expuestas a ultrasonido durante 1 h, con una amplitud de 100 % y ciclo de 1 s. El tratamiento con microondas se evaluó a una potencia de 100 W durante 15 y 30 min con intervalos de 5 min evitando la evaporación del agua destilada. En el tratamiento con enzimas se incubó la muestra a 45°C durante 4 h. Los rendimientos se calcularon con base al contenido inicial de aceite determinados por el método Soxhlet para cada variedad 12,0 % para Kala Alphonso y 11,35 % Mariquita. Los resultados mostraron que la semilla Kala Alphonso tratada con enzima presentó mayor rendimiento de extracción con 33,36 % en comparación con Mariquita (25,99 %). Con el tratamiento de ultrasonido, la variedad Kala Alphonso obtuvo el mayor rendimiento de extracción (16,02 %). En el tratamiento con microondas no se logró obtener unas condiciones de procesamiento donde la exposición a la energía electromagnética no afectara la estructura de la semilla y se pudiera extraer grasa de semilla de mango. Las pruebas de calidad determinaron que la grasa extraída presenta características similares a grasas industriales, lo que permitiría su posible futura aplicación en diferentes industrias.

^I Universidad del Tolima, Ingeniera Agroindustrial, Calle 67 No. 53-108 B, Santa Helena, Ibagué, Colombia. e-mail: lizza_rob@hotmail.com

^{II} Universidad del Tolima, Profesor asistente, Departamento de Producción y Sanidad Vegetal, Calle 67 No. 53-108 B, Santa Helena, Ibagué, Colombia. e-mail: apsandovala@ut.edu.co

^{III} Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria –CORPOICA, Investigador profesional, Nataima. Km 9 vía Espinal-Ibagué. e-mail: jvalencia@corpoica.org.co

Palabras clave: Grasa de mango, Ultrasonido, Microondas, Enzima.

Abstract

It was evaluated the ultrasound, microwaves and enzymatic treatment effects as previous processing to the press method in order to increase mango seed fat extraction performance. Two varieties of mango, Kala Alphonso and Mariquita, were subjected to different treatments. The samples were exposed to ultrasound waves during 1 h, with 100 % amplitude and 1 s cycle. The microwave treatment was evaluated at minimal power (100 W) during 15 and 30 min with 5 min intervals for avoiding distilled water evaporation. In the treatment with enzymes, the sample was incubated at 45°C during 4 h. The yield was analyzed based on the initial oil content measured by Soxhlet method, 12,0 % for Kala Alphonso and 11,35 % for Mariquita. The results showed that Kala Alphonso seed treated with enzyme had a higher yield with 33,36 % compared to Mariquita with 25,99 %. In the ultrasound treatment, the Kala Alphonso variety had the higher extraction performance (16,02 %). In the microwave treatment was not possible to obtain processing conditions that exposure to electromagnetic energy will not affect the seed structure and the extraction of fat mango kernel. The quality results showed that fat mango seed presented characteristics similar to other industrial fats, so it is possible used in different industries considering its high unsaturated fatty acid content.

Keywords: Mango fat, Ultrasound, Microwave, Enzyme.

1. INTRODUCCIÓN

Uno de los residuos que durante la cadena de transformación del mango está siendo actualmente investigado es la semilla, debido a las propiedades que presenta su harina y su grasa, las cuales poseen características funcionales y fisicoquímicas que pueden ser usadas en diversos productos, como por ejemplo, el reemplazo de una grasa en el caso de la manteca de cacao, convirtiéndose en un sustituto de esta en la producción de chocolates (Tapia et al., 2013).

Debido a que la grasa de la semilla de mango presenta altas cantidades de ácidos grasos insaturados, principalmente el oleico y el linoléico, son de alta importancia en la estabilidad de los aceites por las reacciones químicas que se presentan en los dobles enlaces (Kittiphoom y Sutasinee, 2013). En consecuencia, la semilla de mango resulta ser más estable respecto a otros aceites vegetales ricos en ácidos insaturados, los cuales parecen ser adecuados en la industria de la confitería y jabones.

La técnica Soxhlet, es el método de extracción estándar de aceites, la muestra se pone repetidamente en contacto con las porciones frescas del disolvente, lo que ayuda a desplazar el equilibrio de transferencia (Kittiphoom y Sutasinee, 2013). Igualmente se conoce los métodos mecánicos (prensado o extrusión), son tratamientos que someten la muestra a presión y temperatura para liberar el aceite. En la actualidad, hay una amplia variedad de métodos oficiales que implica una etapa de preparación de la muestra basado en la extracción soxhlet, estos pretratamientos como el microondas y el ultrasonido, disminuyen los tiempos de procesamiento y el consumo de disolventes, y adecuan el material para la liberación de los componentes grasos (Momeny et al., 2012). Otras metodologías utilizadas para aumentar la extracción de aceite es utilizar enzimas,

ellas ayudan a degradar la pared celular de la semilla para extraer el aceite. Según Lema et al. (1994) la aplicación de un tratamiento enzimático previo a la extracción de semillas de elevado contenido graso favorece la extracción del aceite. Siendo las variables de operación que influyen directamente sobre la efectividad del proceso, la relación enzima/semilla y el tiempo de tratamiento.

El presente estudio determinó el efecto de tres tratamientos previos a la extracción mecánica; enzimática, microondas y ultrasonido a dos variedades de mango, Kala Alphonso y Mariquita. Con dichos tratamientos se buscaba aumentar el rendimiento de extracción de los componentes grasos de la semilla de mango por prensado. Este sistema de extracción de aceite es muy utilizado en la industria; sin embargo, su eficiencia es baja, en estudios anteriores se ha logrado incrementar hasta en un 20 % el rendimiento, al utilizar tratamientos previos comparándolo con el método estándar (López, 2013). Todo lo anterior buscaba generar una alternativa para mejorar el rendimiento en el proceso de extracción de la grasa y de esta forma aprovechar este subproducto del mango, el cual posee potencialidades para las industrias cosmética y alimenticia.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Se emplearon 10 Kg de mango provenientes del banco de germoplasma del CI Corpoica Sede Nataima en estado de madurez fisiológica de 3 y 4 (NTC 5139, ICONTEC, 2002). Se extrajo la semilla y se molieron en un molino de cuchillas (Thomas-Wiley Laboratory Mill-Model 4, Thomas Scientific® U.S.A.), el producto obtenido se pasó por un tamiz (U.S.A. Standard Sieve Series) de 3,35 mm de apertura de malla para obtener la granulometría deseada (tamaños entre 3,35 y 4,75 mm). Previamente a los tratamientos de extracción, las semillas secas se hidrataron para obtener más fácilmente los componentes grasos. Las pruebas de hidratación fueron con vapor de agua (baño serológico) (Magni Whirl Constant temperatura bath MW-1110 A-1, Blue M, U.S.A.).

2.1 Tratamientos

Para el tratamiento enzimático se utilizó un baño serológico a una temperatura de 45°C, se colocó una muestra de 200 g en el baño caliente, se esperó hasta que el sistema alcanzara una temperatura uniforme, se adicionó la cantidad de enzima Rapidase TF (dosis 1 %) con una micropipeta (100-1000 µl), se tapó con papel aluminio y se puso en agitación leve de 15 rpm (Homogenizador power control-visc 6000, IKA® EUROSTAR, Alemania) durante 4 h. Luego la muestra tratada se ubicó en el cilindro extractor de la prensa hidráulica para la extracción del aceite (López, 2013; Rojas y Burbano, 2012).

Para el tratamiento por ultrasonido a 100 g de muestra se le adicionó 6,5 g de NaCl, se mezcló en una tarrina plástica, se llevó al equipo de ultrasonido (Ultrasonic Processor UP200S, hielscher Ultrasound Technology, Alemania), el cual trabajó con una amplitud de 100 % y un ciclo de 1 s por un tiempo de exposición de 60 y 90 min. Transcurrido el tiempo de exposición, se trasladó las semillas a la prensa hidráulica para extraer el aceite.

Para el tratamiento por microondas a una muestra de 100 g se adicionó en peso 6,5 g de NaCl, para facilitar la separación de fases y se llevó en un horno microondas (Electrolux®, capacidad 31 litros), con una potencia mínima de 100 W por un tiempo de 15 y 30 min con intervalos de 5 min controlando que no se evaporara el agua.

Para la extracción del aceite en prensa hidráulica se utilizó un equipo automatizado con capacidad de generar una presión de 2960 psi (López, 2013). La muestra de cada uno de los tratamientos se dispuso en una tela filtrante, se colocó en un cilindro extractor, sometiéndola lentamente a una presión de 2400 psi y una temperatura entre 25 y 35°C. Se mantuvo la presión constante por 30 min. Terminado el tiempo de extracción se accionó la válvula que alivió la presión de la prensa hidráulica. La mezcla oleo-acuosa se recogió en un tubo de ensayo de 50 ml, el cual fue sometido a un proceso de centrifugación Refrigerada (Neofuge 23R, Heal Force®, China) a 7000 rpm durante 30 min a 30°C para separar el aceite del agua. El aceite centrifugado se depositó en otro tubo de ensayo de 13 ml previamente pesado. El extracto fue almacenado bajo condiciones de refrigeración (5°C).

El rendimiento se calculó relacionando el porcentaje de aceite obtenido por el método Soxhlet, reportando valores de 12 % para variedad Kala Alphonso y 11,35 % para Mariquita. Una vez cuantificado el rendimiento de extracción, se determinó los parámetros fisicoquímicos del aceite obtenido, teniendo en cuenta las Normas Técnicas Colombiana: índice de acidez (NTC 218), índice de yodo (NTC 283), índice de saponificación (NTC 335), índice de refracción (NTC 289) y densidad Relativa (NTC 336). Para el caso de las grasas extraídas mediante método Soxhlet, la composición de ácidos grasos fue mediante cromatografía de gases, servicio prestado por un Laboratorio certificado de Procesos Químicos Industriales POI de la Universidad de Antioquia.

2.2 Análisis estadístico

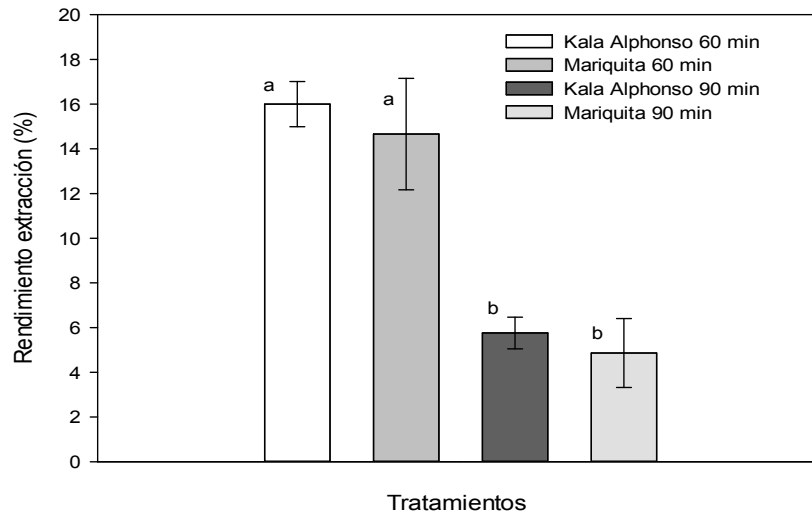
Se realizó un análisis de varianza de dos vías con un nivel de confianza del 95 %, empleando el programa Statistix 8.0. Para los tratamientos que presentaron diferencia significativa se aplicó una prueba de comparación de medias con el test de Tukey HSD (Honestly Significant Difference) con un nivel de significancia del 95 %. Los datos fueron reportados como promedios \pm desviación estándar.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las muestras que se sometieron a calentamiento por microondas presentaron una elevación de la temperatura, al transcurrir el tiempo de exposición el agua empezó a evaporarse y se quemaron los trozos de semillas. La energía del microondas tuvo un efecto en la estructura de las semillas, pues durante el prensado y centrifugado se obtuvo un material viscoso con sedimentos alrededor de los tubos de ensayo. Una de las razones que se le puede atribuir al sobrecalentamiento es a las altas propiedades dieléctricas del solvente, que aumentaba la capacidad de calor arriesgando el futuro de los constituyentes termolábiles (Veggi et al., 2013). Debido a que la muestra estaba sometida en un depósito cerrado, la temperatura aumentó por sí sola, lo que difirió ampliamente en la eficiencia del efecto del microondas. Asimismo, la preparación de la muestra con la adición de sal influyó en el aumento de la velocidad de calentamiento, porque la orientación del dipolo de la conductividad de iones es el principal origen de la polarización y corresponde a las pérdidas de calor en el calentamiento dieléctrico (Veggi et al., 2013).

Para validar los datos obtenidos de los tratamientos con Ultrasonido y Enzima se analizó el efecto del tratamiento sobre el rendimiento de extracción de grasa y la variedad de mango, se replanteó el diseño factorial ya que en el tratamiento con microondas no se obtuvo resultados de extracción de grasa. Por tanto, el nuevo diseño factorial es de 2x2 con 3 repeticiones, los factores fueron: tratamientos (ultrasonido y enzimático) y variedad de mango (Kala Alphonso y Mariquita).

Para el tratamiento asistido con ultrasonido se realizó pruebas preliminares con el fin de determinar el tiempo de extracción de acuerdo con la metodología planteada y establecer el procedimiento con mayor rendimiento de extracción, calculado con base al contenido de aceite de la semilla determinado por extracción Soxhlet.



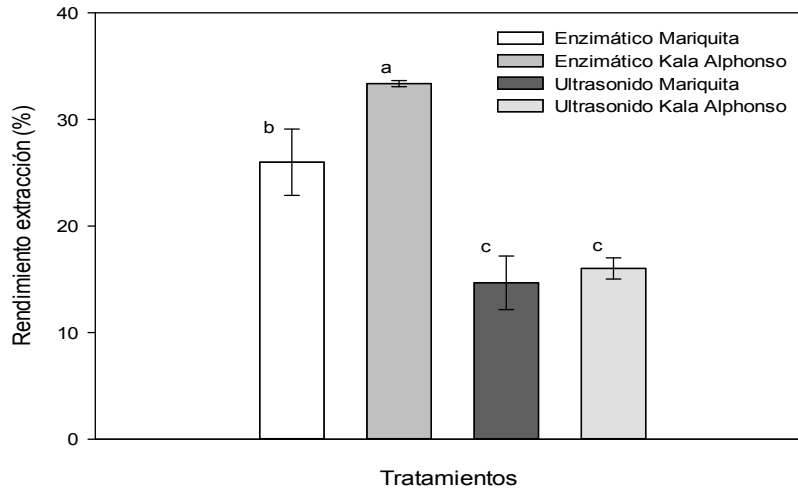
Fuente: Autor

Figura 1. Rendimiento de extracción de aceite de semilla de mango a diferentes tiempos.

Se observa que existe una diferencia estadísticamente significativa entre los tiempos sobre el rendimiento de extracción puesto que los valores de $P < 0,05$. A partir de este resultado el tiempo de 60 min fue el tiempo elegido para realizar las respectivas extracciones ya que presentó los mejores rendimientos para las dos variedades.

Rendimiento de extracción de los tratamientos de ultrasonido y enzima. Una vez desarrollados los tratamientos, se procedió a comparar los rendimientos de extracción para las dos variedades. En la figura 2 se muestra los rendimientos obtenidos por ultrasonido y por enzima. Los tratamientos y la variedad de mango tienen un efecto estadísticamente significativo ($P < 0,05$) sobre el rendimiento.

La variedad Kala Alphonso presentó el mayor rendimiento de extracción de grasa al ser sometida a los dos tratamientos, de igual forma se comprobó que las enzimas son más específicas en la extracción de grasa, facilitando la liberación de los compuestos grasos hacia el exterior.



Fuente: Autor

Figura 2. Rendimiento de extracción de grasa de dos variedades de mango sometidos a tratamiento enzimático y ultrasonido

Los porcentajes de grasa encontrados con el tratamiento enzimático fueron mayores que los obtenidos por López (2013) al extraer aceite de mango variedad Kala Alphonso con la misma enzima, los cuales eran del 17 al 22 % máximo. El aumento del rendimiento de extracción puede deberse a la diferencia de tamaño de partícula de las semillas trabajadas, en este estudio se utilizó semilla molida con tamaños entre 3,35 y 4,75 mm a diferencia de López (2013), quien utilizó harina de semilla de mango. También se logró obtener mayor rendimiento de extracción de grasa que Rojas y Burbano (2012) quienes reportaron valores de cantidad de aceite de 16,73 y 18,23 % para variedad Tommy y Azúcar. El tratamiento con ultrasonido mostró un rendimiento de extracción del 14,66 al 16,0 % para Mariquita y Kala Alphonso.

En la tabla 1 se evidencia los resultados de los parámetros de calidad. La densidad relativa no constituye un parámetro directo de la calidad del aceite, sin embargo, puede variar con la polimerización o la oxidación (López, 2013). Para la densidad relativa el factor método de extracción fue estadísticamente significativo $P < 0,05$, obteniendo un mayor valor de densidad por ultrasonido. Los resultados obtenidos se encontraron alrededor de los valores de López (2013) y Salazar et al. (2004) y los registrados por las Normas Técnicas Colombiana de los aceites de algodón, coco, oliva, maíz y algodón, indicando que estuvieron dentro de los parámetros establecidos para aceites vegetales crudos en las industrias.

El índice de acidez es una medida del grado de descomposición del aceite o de la grasa, por acción de lipasas o por algunas otras causas; como la rancidez que es acompañada por la formación de ácidos grasos libres, la determinación es usada como una indicación general de la condición y comestibilidad de los aceites y las grasas (Herrera et al., 2003). El Índice de acidez estuvo influenciado por el efecto de los tratamientos, existiendo una diferencia estadísticamente significativa ($P < 0,05$). El valor de índice de acidez fue similar a los encontrados en Rojas y Burbano (2012) quienes trabajaron con enzima las variedades Tommy y Azúcar. El valor de acidez estuvo fuera de los límites establecidos por la normatividad colombiana para aceites vegetales comestibles,

donde el valor máximo admitido es de 2 % de ácido oleico. Se puede atribuir el aumento de este parámetro al contacto que tuvo la grasa con el oxígeno, el cual comenzó a descomponer los triglicéridos, dejando libre los ácidos grasos e iniciando la degradación del aceite. Otros posibles factores que pudieron alterar la estabilidad de la grasa fueron el almacenamiento no adecuado de las muestras, que incluye la variación de la temperatura o la exposición a la luz (FAO, 2011).

El índice de saponificación varía dependiendo del tipo de aceite que se esté trabajando, indica la cantidad de KOH necesaria para saponificar por completo un gramo de grasa (Herrera et al., 2003). El índice de saponificación estuvo influenciado por el efecto de los tratamientos existiendo una diferencia estadísticamente significativa ($P < 0,05$). La variedad Kala Alphonso con el tratamiento con ultrasonido se encontró muy por debajo con respecto a los determinados para la variedad Mariquita.

Tabla 1. Calidad de la grasa extraída de la semilla de dos variedades de mango

Interacción MExV					
Tratamientos	ρ (g/cm ³)	Índice de acidez (% ácido oleico)	Índice saponificación (mg KOH/g grasa)	Índice refracción	Índice yodo (g l/100g grasa)
Kala Alphonso (Ultrasonido)	0,917 ± 0,001	7,33 ± 0,24 ^a	127,32 ± 16,85 ^b	1,4656 ± 0,0002	47,58 ± 2,67
Mariquita (Ultrasonido)	0,917 ± 0,002	7,50 ± 0,08 ^a	193,80 ± 58,90 ^a	1,4659 ± 0,0001	43,65 ± 2,64
Kala Alphonso (Enzimático)	0,916 ± 0,001	7,40 ± 0,10 ^a	216,54 ± 9,87 ^a	1,4712 ± 0,0081	44,75 ± 0,46
Mariquita (Enzimático)	0,913 ± 0,001	4,84 ± 0,22 ^b	192,21 ± 39,63 ^a	1,4662 ± 0,0002	45,45 ± 2,16
Valor P	0,068	≤ 0,05	0,008	0,290	0,103
C.V. (%)	0,14	2,55	12,34	0,280	4,81

Fuente: Autor

Letras diferentes en la misma columna e igual factor representan diferencias significativas (Valores $P < 0,05$) mediante test de Tukey HSD. Valores promedio ± D.E. para parámetros de calidad de aceites extraídos.

4. CONCLUSIONES

Para la extracción de grasa de semilla de mango por prensado hidráulico se requiere un tratamiento previo para garantizar la separación de los componentes. El aumento en el rendimiento para ultrasonido es de 29 y 33% para Mariquita y Kala Alphonso, respectivamente. Sin embargo, el tratamiento enzimático fue el que presentó mayores rendimientos, reportando valores del 25,99% para Mariquita y 33,36% en Kala Alphonso. En cuanto a las características de calidad del aceite de la semilla de mango, estas no se vieron afectadas por el tipo de variedad, pero si por los tratamientos, encontrando que el ultrasonido presentó mayor deterioro respecto al tratamiento enzimático.

5. AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Departamento Administrativo de Ciencia, Tecnología e Innovación COLCIENCIAS por la financiación del proyecto “Caracterización de los Componentes Grasos Obtenidos de Almendras de Diferentes Acciones del Banco de Germoplasma de Mango” desarrollado en la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria, CORPOICA, sede Nataima.

6. REFERENCIAS

Bailey, P. S., & Bailey, C. A. (1998). *Química Orgánica: conceptos y aplicaciones*. España: Pearson Educación.

Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, FAO (2011). Código Internacional de prácticas recomendado para el almacenamiento y transporte de aceites y grasas comestibles a granel [Versión pdf]. Recuperado de:

<http://www.uclm.es/profesorado/mdsalvador/58119/practicas/Codex%20CACRCP%2036%20Almacenamiento%20aceites%20y%20grasas.pdf>.

Heredia, J. B. (2009). *Extracción de aceite del hueso de mango. (Resultado de proyecto)*, Fundación Produce Sinaloa, Sinaloa, México.

Kittiphoom, S. & Sutasinee, S. (2013). Mango seed kernel oil and its physicochemical properties. *International Food Research Journal*, 20 (3), 1145-1149.

Lopez, M. (2013). *Evaluación del rendimiento de extracción y caracterización de la grasa de semilla de 20 accesiones de mango del banco de germoplasma y materiales nativos*. (Tesis de pregrado Ingeniero Agroindustrial), Facultad de Agronomía: Universidad del Tolima, Ibagué.

Momeny, E.; Rahmati, S. & Ramli, N. (2012). Effect of Microwave Pretreatment on the Oil Yield of Mango Seeds for the Synthesis of a Cocoa Butter Substitute. *Journal of Food Processing & Technology*, 3 (07), 1-7.

Nzikou, J. M.; Kimbonguila, A.; Matos, L.; Loumouamou, B.; Pambou, N.; Ndangui, C.; Abena, A.; Silou, T.; Scher, J. & Desobry, S. (2010). Extraction and characteristics of seed kernel oil from mango (*Mangifera indica*). *Research Journal of Environmental and Earth Sciences*, 2 (1), 31-35.

Rodríguez, J. (2013). *Implementación del análisis cuantitativo de índice de yodo para aceite de palma, aceite de pescado y sebo, en la compañía industrial de productos agropecuarios (CIPA SA)*. (Tesis Tecnólogo Químico), Facultad de Tecnologías: Universidad Tecnológica de Pereira, Pereira.

Rojas, J. & Burbano, F. (2012). *Efecto de un pretratamiento enzimático en el proceso de obtención de la semilla del mango (Mangifera Indica L.)*. (Tesis de pregrado Ingeniero de Alimentos), Facultad de Ingeniería: Universidad del Valle, Cali.

Salazar, E.; Belén, D.; Jiménez, N. & Pino, K. (2004). Características fisicoquímicas del aceite de la semilla de la coroba (*Jessenia polycarpa karst*). *Grasas y aceites*, 55 (4), 423-427.

Tapia, M.; Pérez, B.; Cavazos, J. & Mayelt, Y. (2013). Obtención de aceite de semilla de mango manila (*Mangifera indica L.*) como una alternativa para aprovechar subproductos agroindustriales en regiones tropicales. *Revista Mexicana de Agronegocios*, 17 (32), 258- 266.

Solís, J. & Durán, M. (2011). *Effects of Specific Nuts and Seeds: Mango (Mangifera indica L.) Seed and Its Fats*. Xalapa, Veracruz: Editorial Elsevier Inc.

Referencia	Fecha de recepción	Fecha de aprobación
Efecto de tratamientos enzimático, microondas y ultrasonido en la extracción de grasa de semilla de dos variedades de mango: Kala Alphonso y Mariquita, Provenientes del banco de germoplasma del centro de investigación Corpoica sede Nataima. Lizza Rodríguez ¹ , Angélica Sandoval Aldana ² , Jorge Valencia ³ . <i>Revista Tumbaga</i> (2015), 10, vol.2, 34-42.	Días /mes /año 5/06/2015	Días/mes/año 30/07/2015