

**Obtención y aplicación de un colorante natural de semilla de aguacate como indicador
de pH**

Juliana Hernández Echeverri y Sara Sofía Medina Herrera

Trabajo de Grado para optar por el título de Ingeniera Química
Modalidad investigación

Directora
Lilia Carolina Rojas Pérez
Doctora en Ingeniería

Universidad Industrial de Santander
Facultad de Ingenierías Fisicoquímicas
Escuela de Ingeniería Química
Bucaramanga

2026

Dedicatoria

Este trabajo está dedicado en primer lugar a Dios, por ser mi fortaleza en este camino, porque aún en los momentos difíciles en los que me alejé de Él, nunca dejó de recordarme que era capaz de seguir adelante en esta etapa.

A mi mamá, Gloria, quien ha sido el motor que impulsa mis días y mi mayor inspiración. Por su amor incondicional y su apoyo infinito. Por creer en mí y en mi potencial, incluso cuando yo misma dudaba.

A mi papá, Jorge, quien ha sido mi mayor ejemplo de esfuerzo y lucha. Por su entrega constante y por mostrarme el valor de no rendirse.

Y por supuesto, a la Sara del 2019, por no haber soltado esta meta a pesar del tiempo, el miedo, la frustración y las veces que tuvo que empezar de nuevo. Hoy entiendo que cada pausa, llena de nuevas experiencias y oportunidades, también me hizo crecer y me trajo hasta este momento.

- **Sara**

Dedicatoria

*A Dios y a mamita María, por ser los autores del camino que me ha traído hasta aquí.
Por enseñarme que todo sucede en el momento perfecto. Hoy miro atrás y entiendo que cada
paso hacía parte del plan que habían preparado para mí.*

*A mis papás, porque este no es solo mi título; también es el suyo. Por enseñarme a
soñar sin límites, darme las alas para volar lejos de casa y construir mi propio camino, por
creer en mí incluso antes de que yo lo hiciera. Las palabras: “nuestro sueño es verlas
profesionales” hoy cobran todo su significado.*

*A Mariana, por crecer conmigo, inspirarme a ser cada día una mejor persona y por
ser my home. A Luciana, por ser ese regalo inesperado que llenó nuestro hogar de una nueva
ilusión. Que siempre encuentren en mí un apoyo para perseguir sus sueños.*

*Y finalmente, a la Juliana que un día dejó su hogar para perseguir un sueño. A la que
enfrentó la distancia, la incertidumbre, los nuevos comienzos, las noches de desvelo y los
momentos en los que creyó no ser suficiente, pero decidió seguir adelante. Gracias por no
renunciar, por confiar en que todo pasa por algo y por creer, incluso en los días más
difíciles, que estabas hecha para grandes cosas. Que este título sea siempre un recordatorio
de todo lo que fuiste capaz de superar y del camino que apenas comienza.*

- Juliana

Agradecimientos

En primer lugar, agradezco a Dios por acompañarme durante cada etapa de este proceso.

A la profesora Carolina Rojas, por creer en mí desde el inicio, por impulsarme constantemente a dar más de mí misma y por motivarme a aprovechar cada oportunidad de crecimiento. Su dedicación y orientación hicieron posible el desarrollo de este trabajo y dejaron una huella significativa en mi formación académica y profesional.

A mis padres, Gloria y Jorge, por su amor incondicional, su apoyo constante y los valores que me han inculcado a lo largo de mi vida. Gracias por sostenerme en los momentos más difíciles, por impulsarme a seguir adelante y por celebrar cada uno de mis logros como si fueran propios.

A mi hermana, Danna, quien, aun en la distancia, siempre estuvo presente con sus palabras de ánimo, su cariño y su confianza en mí.

A mi novio, Sammy, por su amor, paciencia y compañía durante este camino. Gracias por escucharme en los momentos de incertidumbre, por motivarme cuando las fuerzas parecían faltar y por ser siempre una voz de aliento. Gracias por confiar en mi potencial y por recordarme que, con dedicación y disciplina, soy capaz de alcanzar todo aquello que me proponga.

A mi compañera de trabajo de grado, Juliana, por compartir conmigo este proceso lleno de retos, aprendizajes y logros. Gracias por el compromiso y la dedicación que hicieron posible este proyecto, pero también por las conversaciones, las risas y los momentos compartidos que fueron construyendo una amistad más allá de lo académico.

A todas las personas que, de una u otra forma, acompañaron este proceso y aportaron a que hoy sea una realidad.

- Sara

Agradecimientos

Por encima de todo, a Dios y a mamita María. Gracias por mostrarme, una y otra vez, que sus planes siempre son mejores que los míos.

A la profesora Lilia Carolina, directora de este trabajo de grado, por su guía, dedicación y compromiso. Gracias por creer en nosotras, motivarnos constantemente y acompañar no solo nuestro crecimiento académico, sino también nuestro desarrollo profesional y personal.

A mi mamá, Linney, por ser mi mejor amiga, mi refugio y la persona con la que siempre pude ser yo misma. Gracias por escucharme, acompañarme en la distancia y recordarme, con tu amor y fortaleza, que siempre tenía un hogar al cual volver. A mi papá, Hernando, por creer en mí incluso antes de que yo aprendiera a hacerlo, por impulsarme a soñar en grande y por recordarme, con cada *"ánimo, mami, yo sé que usted puede"*, que siempre era capaz. A ustedes dos, gracias por hacer de nuestra educación la mayor prioridad de sus vidas.

A mis hermanas, Mariana y Luciana, por inspirarme a ser cada día una mejor persona y por motivarme a convertirme en un ejemplo para ustedes. Espero ser siempre un apoyo para acompañarlas en sus propios sueños. A mi nona Marlene, por estar siempre presente, por cada enseñanza, cada gesto de amor y dedicación a la familia.

A Wilder, por hacer este camino más bonito con tu amor y apoyo incondicional. Gracias por acompañarme en cada reto, por impulsarme a perseguir mis sueños y por regalarme una frase que llevaré siempre conmigo: *"Vamos que vamos, ingeniera."* Hoy puedo decir, con felicidad, que esas palabras se hicieron realidad.

A Camila, Danna y Rangel, porque esta etapa no habría sido la misma sin ustedes. Gracias por convertir los momentos más difíciles en recuerdos inolvidables y por regalarme amistades que espero conservar para toda la vida.

A mi compañera de trabajo de grado, Sara, por recorrer este camino conmigo. Gracias por demostrarme que el esfuerzo compartido hace el camino más llevadero y por regalarme, además de una excelente compañera, una gran amistad.

Finalmente, a todos los que de alguna u otra manera aportaron su granito de arena para hacer posible este proyecto.

- **Juliana**

Tabla de Contenido

Introducción	13
1. Objetivos	15
1.1. Objetivo general	15
1.2. Objetivos específicos.....	15
2. Estado del Arte	16
3. Metodología	21
3.1 Diagrama general del proceso experimental	21
3.2. Fase 1. Obtención del colorante natural y selección de la mejor condición de extracción	23
3.2.1 Obtención y preparación de la materia prima	23
3.2.2 Diseño experimental.....	23
3.2.3. Extracción asistida por sonda ultrasónica	24
3.2.4 Separación del colorante	24
3.2.5 Caracterización del extracto	24
3.2.6. Concentración del colorante y determinación del rendimiento	25
3.2.7 Análisis estadístico	26
3.2.8 Determinación de la concentración del colorante	26
3.2.9 Evaluación de la respuesta colorimétrica preliminar del extracto.....	27
3.3 Fase 2: Incorporación del colorante en el biomaterial de soporte y evaluación de su respuesta colorimétrica.....	28
3.3.1 Preparación del biomaterial de soporte	28

3.3.2 Evaluación de la respuesta colorimétrica del biomaterial	29
4. Resultados	30
4.1 Fase 1: Obtención del colorante natural	30
4.1.1 Caracterización de la materia prima.....	30
4.1.2 Rendimiento de extracción.....	31
4.1.3 Análisis estadístico	33
4.1.4 Caracterización del colorante obtenido bajo la condición seleccionada	38
4.1.5 Determinación de la concentración de sólidos solubles en el extracto	38
4.1.6 Respuesta colorimétrica preliminar del extracto frente al pH y selección de la concentración.....	39
4.2 Evaluación de la respuesta colorimétrica del colorante incorporado en el biomaterial de soporte	42
5. Conclusiones	47
6. Recomendaciones	49
Referencias bibliográficas	51
Apéndices	56

Lista de Tablas

Tabla 1. Rendimiento de extracción en base húmeda y base seca (%), corregido por azúcares reductores (DNS)	32
Tabla 2. Rendimiento de extracción en base húmeda, corregido por azúcares reductores (DNS) acotada a 2 réplicas.....	34
Tabla 3. Resultados del análisis ANOVA con los datos acotados	34
Tabla 4. Distribución de grupos según la prueba de Tukey de acuerdo con su significancia .	35
Tabla 5. Determinación de la concentración característica del colorante bajo la condición seleccionada	39
Tabla 6. Diferencias de color (ΔE) entre pares de pH consecutivos y entre los extremos de la escala, para cada concentración	40
Tabla 7. Diferencias de color (ΔE) entre pares de pH consecutivos y entre los extremos de la escala, para los biomateriales al 4 % y 10 % de almidón	44

Lista de Figuras

Figura 1. Diagrama general del proceso.	22
Figura 2. Respuesta colorimétrica de las cuatro concentraciones de colorante frente a soluciones buffer de pH 3 a 11.....	39
Figura 3. Gráfica de barras ΔE entre pares de pH consecutivos por concentración.....	41
Figura 4. Croma (C^*) de la concentración 1% y 5% de colorante en función del pH.....	42
Figura 5. Aspecto inicial de los biomateriales de almidón al 4% y 10% con colorante incorporado, antes de la exposición a las soluciones buffer	43
Figura 6. Respuesta colorimétrica de los biomateriales al 4 % y 10 % de almidón frente a soluciones buffer de pH 3 a 11	44
Figura 7. Diferencia de color (ΔE) entre pares de pH consecutivos para los biomateriales al 4% y 10%.....	45
Figura 8. Croma (C^*) de los biomateriales al 4% y 10 % de almidón en función del pH.	46
Figura 9. Cambio de color del biomaterial expuesto en un pollo a través del tiempo	50

Lista de Apéndices

Apéndice A. Azúcares reductores coextraídos (método DNS) y su recuperación respecto al contenido teórico de almidón de la semilla.....	56
Apéndice B. Resultados análisis ANOVA con los triplicados	56
Apéndice C. Parámetros L^* , a^* y b^* de las biopelículas con diferente concentración de almidón.....	57

Resumen

Título: Obtención y aplicación de un colorante natural de semilla de aguacate como indicador de pH*

Autor: Juliana Hernández Echeverri y Sara Sofía Medina Herrera**

Palabra Clave: Semilla de aguacate, colorante natural, indicador de pH, extracción asistida por ultrasonido, CIELab, biopolímero de almidón.

Descripción:

El aprovechamiento de la semilla de aguacate, un subproducto agroindustrial de bajo valor comercial motivó este trabajo, en el que se evaluó su uso como fuente de un colorante natural sensible al pH. El estudio se desarrolló en dos fases. En la primera se obtuvo el colorante mediante extracción asistida por ultrasonido a partir de semilla de aguacate criollo, en esta etapa, se analizó el efecto de la temperatura (30, 40 y 50°C) y la relación etanol:agua (50:50, 30:70 y 70:30) sobre el rendimiento de extracción mediante un diseño factorial 3². El análisis estadístico mostró que la temperatura y su interacción con la relación de solvente influyeron de forma significativa, mientras que la relación de solvente por sí sola, no tuvo efecto; con base en estos resultados se seleccionó la condición de 50°C y relación 30:70 como parámetros de operación para obtener el extracto del colorante que se aplicaría en la segunda fase. El extracto obtenido presentó un pH ligeramente ácido (5,75) y una coloración amarillo-anaranjada (L*: 83,65, a*: 5,05 y b*:84,30) consistente con la “perseorangina”, pigmento descrito previamente para la semilla de aguacate. A partir de este extracto se evaluaron distintas concentraciones del colorante frente a variaciones de pH, y se seleccionó el que reunió la mejor diferenciación de color e intensidad para su incorporación en el biomaterial. En la segunda fase, el colorante se incorporó en biopelículas de almidón de papa a dos concentraciones de soporte (4% y 10%) y se evaluó su respuesta frente a soluciones reguladoras entre pH 3 y 11. La matriz de almidón conservó la sensibilidad al pH, aunque con un rango de color atenuado respecto al colorante libre. La formulación con mayor contenido de almidón diferenció la totalidad de los intervalos de pH evaluados y presentó la mayor intensidad de color tras la exposición a las soluciones buffers, por lo que se seleccionó para esta aplicación. Los resultados respaldan el potencial del colorante de semilla de aguacate como indicador natural de pH, soportado en un biomaterial de almidón, que además tendría la viabilidad de usarse como un empaque biodegradable para alimentos.

*Trabajo de Grado

**Facultad de Ingenierías Físicoquímicas. Escuela de Ingeniería Química. Director: Lilia Carolina Rojas Pérez. Doctora en Ingeniería.

Abstract

Title: Application of a Colorant Obtained from Avocado Seed as a Natural pH Indicator*

Author: Juliana Hernández Echeverri and Sara Sofía Medina Herrera**

Key Words: Avocado seed, natural colorant, pH indicator, ultrasound-assisted extraction, CIELab, starch biopolymer.

Description:

The valorization of avocado seed, an agro-industrial by-product of low commercial value, motivated this work, in which its use as a source of a pH-sensitive natural dye was evaluated. The study was carried out in two phases. In the first, the dye was obtained through ultrasound-assisted extraction from criollo avocado seed; at this stage, the effect of temperature (30, 40, and 50 °C) and the ethanol:water ratio (50:50, 30:70, and 70:30) on extraction yield was analyzed using a 3² factorial design. The statistical analysis showed that temperature and its interaction with the solvent ratio had a significant influence, whereas the solvent ratio on its own had no effect; based on these results, the condition of 50 °C and a 30:70 ratio was selected as the operating parameters for obtaining the dye extract to be applied in the second phase. The extract obtained exhibited a slightly acidic pH (5.75) and a yellow-orange coloration (L*: 83.65, a*: 5.05, and b*: 84.30), consistent with "perseorangin," a pigment previously described for avocado seed. From this extract, different dye concentrations were evaluated against pH variations, and the one that provided the best color differentiation, and intensity was selected for incorporation into the biomaterial. In the second phase, the dye was incorporated into potato-starch biofilms at two support concentrations (4% and 10%), and its response to buffer solutions between pH 3 and 11 was evaluated. The starch matrix retained pH sensitivity, although with a color range attenuated relative to the free dye. The formulation with the higher starch content differentiated all of the evaluated pH intervals and exhibited the greatest color intensity after exposure to the buffer solutions and was therefore selected for this application. The results support the potential of avocado seed dye as a natural pH indicator, supported on a starch biomaterial, which would additionally be viable for use as biodegradable food packaging.

* Bachelor Thesis

* Faculty of Physicochemical Engineering. School of Chemical Engineering. Director: Lilia Carolina Rojas Pérez. Doctor in Engineering

Introducción

El aguacate es una fruta de alta demanda mundial por sus beneficios nutricionales y sensoriales. Colombia se ha posicionado como uno de los principales productores a nivel mundial, alcanzando una producción cercana a los 1,27 millones de toneladas en 2024 (FAOSTAT, 2024), destacándose la variedad Hass por su rentabilidad y demanda internacional (García et al., 2021). En el país también se cultivan variedades como Lorena, Choquette, Fuerte y Reed, además de aguacates regionales comúnmente denominados “criollos”, los cuales presentan características fisicoquímicas y composicionales con potencial de aprovechamiento agroindustrial. Particularmente, el aguacate criollo ha generado interés debido a su amplia producción en diferentes regiones del país y a las limitaciones asociadas con su comercialización, principalmente por su rápida maduración y oxidación. Estas características reducen su competitividad en mercados internacionales frente a variedades como Hass; sin embargo, también han impulsado el interés por desarrollar alternativas de aprovechamiento agroindustrial que permitan valorizar sus subproductos y contribuir a estrategias de sostenibilidad y economía circular (Herrera-Rodríguez & González-Delgado, 2025).

El procesamiento del aguacate genera una cantidad considerable de residuos, ya que fracciones como la semilla y la cáscara pueden constituir entre el 18% y 31% del peso total del fruto, lo que representa más de 1,2 millones de toneladas anuales de subproductos a nivel global (Féliz-Jiménez & Sanchez-Rosario, 2024). La semilla, en particular, contiene compuestos bioactivos que incluyen compuestos fenólicos, como ácidos hidroxibenzoicos, ácidos hidroxicinámicos, proantocianidinas y flavonoides, así como acetogeninas, fitoesteroles, carotenoides y alcaloides, los cuales presentan propiedades antioxidantes y una potencial aplicación en diferentes sectores industriales (Nyakang'i et al., 2023; Salazar-López et al., 2020). Dentro de estos compuestos, los fenólicos han despertado especial interés debido a su participación en reacciones de oxidación enzimática asociadas a la acción de la enzima

polifenol oxidasa (PPO), responsable de la formación de pigmentos naturales en la semilla de aguacate. Dabas et al. (2011) reportaron que la semilla al ser triturada y expuesta al oxígeno desarrolla una coloración naranja dependiente del pH en un rango de 2,0 a 11,0, estable a bajas temperaturas. Debido a la sensibilidad frente a variaciones de pH, este pigmento representa una potencial aplicación como colorante natural e indicador colorimétrico, siendo una alternativa frente a los colorantes sintéticos (De Mejia et al., 2020). Asimismo, su origen natural responde a la creciente preferencia de los consumidores por productos más seguros y sostenibles (Gürses et al., 2023).

En este contexto, la incorporación de colorantes naturales sensibles al pH en biomateriales de soporte ha sido reportada como una estrategia para evaluar su respuesta colorimétrica en sistemas sólidos, con potencial aplicación como indicadores visuales. Estudios recientes demuestran que estos materiales presentan cambios de color visibles y reproducibles al variar el pH, lo que respalda su interés para el desarrollo de indicadores de pH de origen natural (Tavassoli et al., 2022). Sin embargo, en Colombia persiste un vacío de conocimiento sobre la obtención del colorante a partir de la semilla de aguacate y la evaluación de su respuesta colorimétrica cuando es incorporado en un biomaterial de soporte. De lo anterior surge la siguiente pregunta de investigación: ¿Cómo responde colorimétricamente un colorante obtenido a partir de la semilla de aguacate criollo, incorporado en un biomaterial de soporte, frente a soluciones con diferentes valores de pH?

1. Objetivos

1.1. Objetivo general

Evaluar la obtención de un colorante natural a partir de la semilla de aguacate mediante extracción asistida por ultrasonido y su aplicación como indicador natural de pH al ser incorporado en un biomaterial de soporte.

1.2. Objetivos específicos

- Analizar el efecto de variables de operación como temperatura y la proporción de solvente de extracción (etanol:agua) en la obtención del colorante natural a partir de la semilla de aguacate empleando ultrasonido como técnica no convencional de separación.
- Evaluar la respuesta colorimétrica del colorante obtenido al ser incorporado en un biomaterial de soporte y sometido a soluciones con diferentes valores de pH.

2. Estado del Arte

El aguacate (*Persea americana* Mill.) se ha posicionado como uno de los cultivos frutícolas de mayor expansión y valor económico a nivel mundial. La producción ha crecido significativamente, alcanzando 11,22 millones de toneladas en 2024, siendo México el mayor productor, seguido por países como Colombia, República Dominicana, Perú e Indonesia (FAOSTAT, 2024). En Colombia, el cultivo de aguacate ha mostrado un crecimiento estable y se concentra principalmente en los departamentos de Bolívar, Antioquia, Tolima, Cesar, Caldas, Valle del Cauca, Quindío y Santander, lo que representa cerca del 86% del área cultivada (Herrera-Rodríguez et al., 2025). Dentro de las variedades de aguacate cultivadas en Colombia, la Hass ocupa un lugar predominante en las exportaciones, gracias a su rentabilidad y a su creciente aceptación en los mercados internacionales (García et al., 2021). No obstante, el aguacate criollo representa una proporción relevante de la producción nacional. Por otro lado, esta variedad enfrenta limitaciones de comercialización debido a su rápida maduración y oxidación, características que reducen su competitividad en el mercado internacional y que, a su vez, ha impulsado el interés por desarrollar alternativas de aprovechamiento agroindustrial que permitan valorizar sus subproductos en el marco de estrategias de sostenibilidad y economía circular (Herrera-Rodríguez & González-Delgado, 2025).

El procesamiento industrial del aguacate, particularmente para la extracción de aceite y la elaboración de productos como guacamole y salsas genera cantidades significativas de residuos, ya que la semilla y la cáscara representan entre el 18% y 31% del peso del fruto dependiendo de su variedad, generándose más de 1,2 millones de toneladas anuales de subproductos a nivel global (Féliz-Jiménez & Sanchez-Rosario, 2024). Según Salazar-López et al. (2020), entre el 39,6% y el 42,4% del aguacate procesado a nivel industrial termina como un subproducto descartado, lo que representa una carga ambiental y una oportunidad de valorización. Entre estos subproductos se han identificado compuestos de alto valor agregado,

entre ellos compuestos fenólicos como ácidos hidroxibenzoicos, flavonoides y proantocianidinas, así como acetogeninas, fitoesteres, carotenoides y alcaloides, con propiedades antioxidantes y con potencial aplicación en diferentes sectores industriales (Féliz-Jiménez & Sanchez-Rosario, 2024; Salazar-López et al., 2020). Esta riqueza composicional ha despertado el interés científico en sectores como la industria alimentaria, farmacéutica y cosmética, posicionando a la semilla del aguacate como una fuente prometedora de compuestos bioactivos con potencial de valorización agroindustrial (Féliz-Jiménez & Sanchez-Rosario, 2024; Rodríguez-Martínez et al., 2022).

La semilla del aguacate es un subproducto de composición compleja, cuyo contenido de carbohidratos puede variar entre 32 y 80% en base seca, además de contener fracciones variables de proteína, lípidos y fibra que dependen principalmente de la variedad, el estado de madurez y las condiciones del cultivo (de Dios Avila et al., 2023; Féliz-Jiménez & Sanchez-Rosario, 2024). En cuanto a la humedad, Ceballos & Montoya (2013) reportaron valores entre 65,25% y 75,08% para la semilla de tres variedades de aguacate cultivadas en Colombia (Booth8, Trinidad y Papelillo), evaluadas en estados de madurez fisiológica y de consumo. Dentro de esta composición, los compuestos fenólicos representan una fracción de mayor interés para su aprovechamiento, destacándose derivados del ácido cafeico, procianidinas de tipo A y B, epicatequina y catequina, reconocidos por su capacidad antioxidante (Salazar-López et al., 2020). Para el aguacate criollo, Miramontes-Corona et al. (2024) reportaron un contenido fenólico total de $207,01 \pm 1,38$ mg GAE/g de extracto seco y una actividad antioxidante de $1276,18 \pm 6,4$ $\mu\text{mol Fe}^{2+}$ /g de semilla seca, confirmando su potencial como fuente de compuestos bioactivos. Estos compuestos fenólicos, al entrar en contacto con el oxígeno tras la trituración de la semilla, son oxidados enzimáticamente por la enzima polifenol oxidasa (PPO) generando pigmentos naturales cuya coloración varía en función del pH del medio. Este fenómeno fue documentado por Dabas et al. (2011), quienes observaron la

formación de una coloración naranja dependiente del pH en un rango de 2,0 a 11,0, confirmando el papel de la PPO al demostrar que la adición de tropolona, un inhibidor específico de esta enzima eliminaba completamente la formación del color. Complementando este hallazgo, Hatzakis et al. (2019) identificaron al compuesto responsable de esa coloración como la “*Perseorangina*”, una benzotropona glicosilada de tonos amarillo-naranja con absorción máxima a 445nm, lo que ha orientado investigaciones hacia el aprovechamiento de la semilla como fuente para obtener un colorante natural.

La recuperación eficiente de este colorante depende principalmente de la técnica de extracción empleada. Entre las tecnologías convencionales, la maceración ha sido ampliamente utilizada por su facilidad operativa, aunque presenta rendimientos de extracción limitados (Dent et al., 2015); la extracción Soxhlet proporciona resultados reproducibles, pero requiere de tiempos prolongados y grandes volúmenes de solvente (Yue et al., 2018). Teniendo en cuenta estas limitaciones, las técnicas no convencionales han ganado relevancia como alternativas más eficientes: la extracción por microondas destaca por su rapidez, aunque puede comprometer compuestos termosensibles debido a las altas temperaturas que requiere el proceso (Mao et al., 2023; Desai et al., 2010). Por otro lado, la extracción asistida por ultrasonido genera cavitación en el medio líquido que rompe las paredes celulares del material vegetal y facilita la liberación de los compuestos hacia el solvente, ofreciendo mejores rendimientos, menor tiempo de procesamiento y mejor recuperación del extracto (Kumar et al., 2021; Wen et al., 2018). Arlene et al., (2015) fueron de los primeros en aplicar esta técnica para la extracción del colorante de la semilla de aguacate, evaluando el efecto de la temperatura y la relación sólido:solvente sobre el rendimiento, la intensidad del color y el contenido fenólico, reportando resultados superiores frente a la maceración convencional. Dentro de las modalidades de ultrasonido, la sonda resulta más eficiente que el baño convencional, ya que, al introducirse directamente en la muestra, genera una cavitación más intensa y localizada.

Razola-Díaz et al., (2023) confirmaron esta ventaja específicamente en subproductos del aguacate, demostrando que la extracción por medio de sonda incrementó la recuperación de flavan-3-oles en un 54% y la actividad antioxidante entre 62% y 76% respecto al baño de ultrasonido convencional, dado que una mayor recuperación de estos compuestos fenólicos representa un mayor potencial para la obtención del colorante de interés. En cuanto al solvente de extracción, las mezclas de etanol y agua en proporciones intermedias permiten recuperar tanto compuestos fenólicos hidrofílicos como los de mayor peso molecular, con menor toxicidad que los solventes orgánicos (Féliz-Jiménez & Sanchez-Rosario, 2024). La temperatura también juega un papel importante ya que rangos moderados favorecen la solubilización de los compuestos fenólicos sin comprometer la estabilidad del pigmento, según reportan estudios en matrices vegetales similares (Ngamwonglumlert et al., 2017)

Es importante hacer una selección adecuada de estas variables de extracción, ya que permiten obtener un colorante con mayor concentración de compuestos fenólicos activos, lo que a su vez potencia su respuesta colorimétrica frente a variaciones de pH, característica que destaca como indicador natural (Dabas et al., 2011). Los indicadores de pH basados en colorantes naturales funcionan mediante cambios estructurales en los grupos cromóforos que generan las variaciones de color visibles y reproducibles según las condiciones de acidez o basicidad del medio (Ahmad et al., 2018). La cuantificación objetiva de estos cambios de color se realiza mediante el sistema colorimétrico CIELab, que expresa las variaciones de tonalidad a través de los parámetros L (luminosidad), a^* (componente verde-rojo) y b^* (componente azul-amarillo). A partir de estas coordenadas puede derivarse el croma (C^*), que representa la saturación o intensidad del color como la distancia desde el eje acromático, y la diferencia de color total (ΔE), definida como la distancia euclidiana entre dos colores en el espacio CIELab (Mokrzycki & Tatol, 2011). Este último parámetro, al asociarse con escalas de percepción

visual, permite evaluar de forma reproducible la respuesta colorimétrica de extractos naturales frente a diferentes valores de pH (Sohany et al., 2021).

Esta propiedad ha sido estudiada en pigmentos como antocianinas, betalaínas y flavonoides, cuyos cambios de tonalidad en función del pH han impulsado el desarrollo de films biopoliméricos incorporando colorantes como sistemas indicadores de origen natural como alternativa a los indicadores sintéticos (Parlak et al., 2024). Un ejemplo de ello es el trabajo de Choi et al. (2017) quienes desarrollaron un film indicador de pH incorporando antocianinas de batata morada (camote, *Ipomoea batatas*) en una matriz de agar y almidón de papa, demostrando cambios de color visibles y reproducibles frente a soluciones de pH entre 2,0 y 10,0 lo que evidenció el potencial de los biomateriales a base de almidón como matrices de soporte para sistemas indicadores colorimétricos de origen natural.

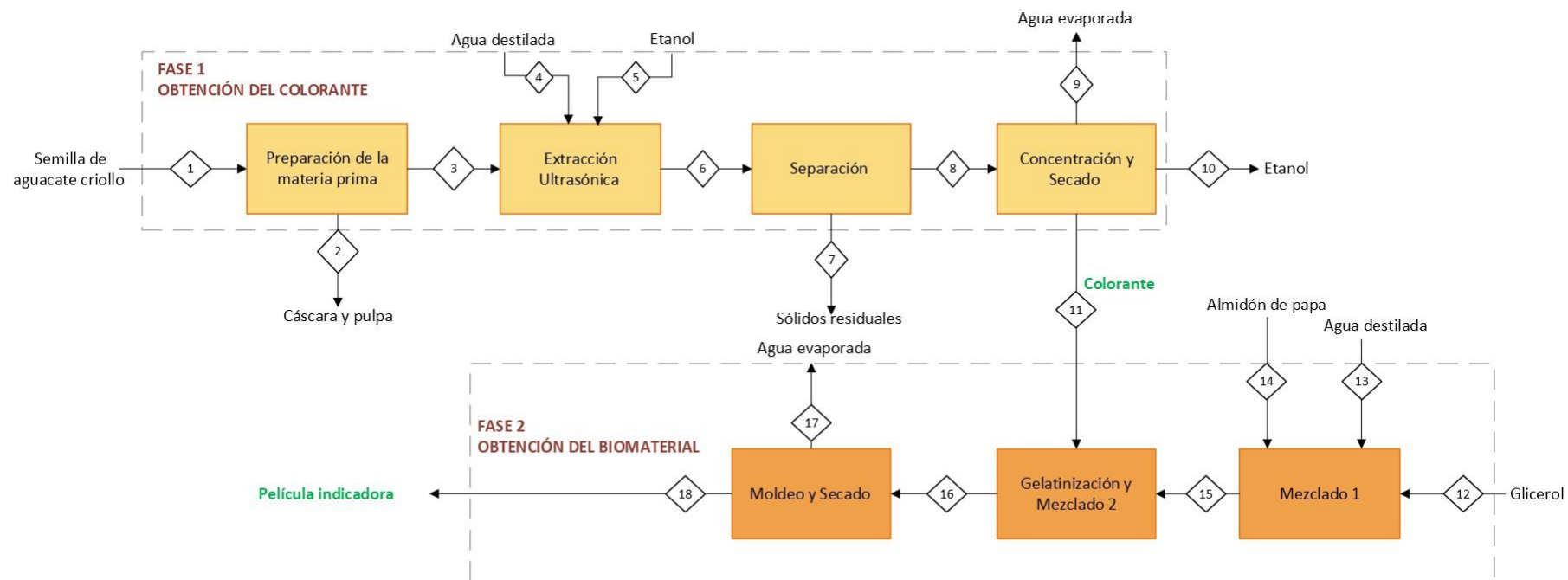
Precisamente, el almidón de papa (*Solanum tuberosum*) resulta una opción adecuada como matriz de soporte para colorantes sensibles al pH, gracias a sus propiedades que favorecen tanto su procesamiento como la respuesta colorimétrica. Químicamente el almidón de papa está compuesto por entre 18 y 27% de amilosa y a 73 a 77% de amilopectina, con una temperatura de gelatinización de 58°C a 67°C, inferior a la de otros almidones como por ejemplo el de maíz que oscila entre 62°C y 72°C (Badui Dergal, 2006, p. 83) Esta diferencia de temperatura facilita la formación de geles homogéneos a temperaturas moderadas, reduciendo el riesgo de degradar pigmentos naturales termosensibles durante la elaboración del film. Asimismo, el almidón de papa se destaca por producir films de alta transparencia y buena estabilidad, lo que permite que el pigmento presente cambios de color visibles y reproducibles frente a variaciones de pH (Chavez-Marquez et al., 2023). Su disponibilidad, bajo costo y biodegradabilidad, lo hacen una opción viable como material de soporte adecuado para el desarrollo de sistemas indicadores colorimétricos de origen natural, con ventajas sobre otros almidones.

A partir de la revisión de la literatura, queda claro que, si bien existe evidencia sobre el potencial colorante de la semilla de aguacate y sobre el uso de biomateriales a base de almidón como sistemas indicadores de pH, aún persisten vacíos importantes. Hasta la fecha, no se han reportado estudios que evalúen de manera integrada la extracción del colorante de semilla de aguacate mediante sonda ultrasónica, el efecto de las condiciones de extracción sobre su respuesta colorimétrica, y su incorporación en un biomaterial de almidón de papa como indicador visual de pH. A esto se suma que el aguacate criollo, variedad ampliamente disponible en Colombia y con características que limitan su competitividad en mercados internacionales, representa una oportunidad poco explorada para el desarrollo de productos de valor agregado a partir de sus subproductos, lo que representa una oportunidad de investigación relevante tanto científica como agroindustrialmente para Colombia.

3. Metodología

3.1 Diagrama general del proceso experimental

En la Figura 1 se presenta el diagrama general del proceso experimental empleado para la obtención del colorante natural a partir de la semilla de aguacate y su posterior aplicación como indicador colorimétrico de pH. El procedimiento se dividió en dos etapas principales: i) obtención del colorante natural y selección de la condición de extracción e ii) incorporación del colorante en un biomaterial de soporte para evaluar su respuesta frente a diferentes valores de pH.

Figura 1*Diagrama general del proceso.*

3.2. Fase 1. Obtención del colorante natural y selección de la mejor condición de extracción

3.2.1 Obtención y preparación de la materia prima

Las semillas de aguacate criollo fueron obtenidas en la Plaza de Mercado San Francisco de la ciudad de Bucaramanga, seleccionando frutos en estado de consumo mediante una inspección visual y táctil, procurando que cumplieran los criterios de calidad de la Categoría I establecidos en la NTC 1248 para aguacate fresco (ICONTEC, 1994). Posteriormente, las semillas fueron separadas manualmente de la pulpa, se retiró la cubierta externa y se procesaron inmediatamente para minimizar posibles cambios en su composición.

Con el fin de determinar el contenido de humedad de la semilla, se realizaron análisis por duplicado sobre tres muestras independientes utilizando un analizador de humedad (Precisa, XM 60-HR, Suiza) y se calculó el valor promedio, el cual fue empleado para corregir la cantidad de agua presente en la muestra durante la preparación de la solución extractora, garantizando la relación exacta de solvente en cada condición experimental.

3.2.2 Diseño experimental

Para evaluar el efecto de las variables de operación sobre la obtención del colorante, se realizó un diseño factorial 3^2 , considerando como factores la temperatura de extracción (30, 40 y 50°C) y la proporción de solvente etanol:agua (30:70, 50:50 y 70:30 v/v). La relación sólido:líquido se mantuvo constante en 1:15 (m/v), empleando 13,33 g de semilla fresca por cada ensayo y un volumen total de extracción de 200 ml por ensayo. Cada condición experimental fue realizada por triplicado para un total de 27 ensayos experimentales.

Para cada ensayo, la semilla fue cortada en trozos de 1x1 cm y homogenizada en una licuadora (Oster, 2114081, Estados Unidos) operada a velocidad mínima como molino de cuchillas, junto con 50 ml de agua destilada. Una vez homogeneizada, se adicionó el volumen

restante de agua destilada y de etanol correspondiente a cada condición. La mezcla fue precalentada en una plancha de calentamiento (DLAB, MS7-H550-S, China) hasta alcanzar la temperatura de trabajo definida, antes de ser sometida al proceso de extracción.

3.2.3. Extracción asistida por sonda ultrasónica

La extracción se llevó a cabo mediante un procesador ultrasónico (Sonics & Materials Part No. VCX750 y VCX500, Estados Unidos) equipado con una sonda de titanio de ½ pulgada de diámetro, operando a una frecuencia de 20 kHz, amplitud del 50% y en modo continuo durante 15 minutos por ensayo. La sonda fue sumergida directamente en la mezcla contenida en un vaso de precipitados. La temperatura fue monitoreada de forma continua mediante el sensor de temperatura integrado al equipo, manteniendo el control mediante un sistema de baño termostataado, permitiendo una variación máxima de ± 2 °C respecto al valor objetivo.

3.2.4 Separación del colorante

Finalizada la extracción, la mezcla fue sometida a una etapa de separación sólido-líquido en tres etapas secuenciales: En primer lugar, se realizó una filtración gruesa para retener los sólidos de mayor tamaño por medio de un filtro metálico con una abertura promedio de aproximadamente 0,5-1,5mm. El filtrado obtenido se sometió a una etapa de centrifugación con control de refrigeración (Thermo Scientific, SL 8R, China) a 6000 rpm durante 15 min a 4 °C. Finalmente, el sobrenadante fue sometido a filtración al vacío empleando papel filtro Whatman No. 1 y una bomba de vacío (BIOBASE, GM-0.33HP, China).

3.2.5 Caracterización del extracto

A cada extracto se le determinó el pH mediante un pH-metro (Hanna Instruments Edge, HI2002, Italia). Adicionalmente, se tomó 1 ml del extracto para la caracterización colorimétrica. Se realizó un registro colorimétrico mediante captura digital de imágenes utilizando una cámara de iluminación LED diseñada para garantizar condiciones constantes de

adquisición, con dimensiones de $39 \times 29 \times 21$ cm, con una apertura para introducir el tubo de vidrio conteniendo la muestra y un orificio para la cámara del dispositivo móvil (Redmi Note 9, China). Las superficies internas de la cámara fueron acondicionadas con un recubrimiento negro para disminuir la reflexión de la luz en el interior del sistema. Esta configuración permitió reducir los efectos asociados a la dispersión y rebote de la iluminación sobre las paredes de la cámara, evitando la aparición de zonas de brillo o sombreado que pudieran afectar la determinación de las coordenadas cromáticas de las muestras. Los parámetros colorimétricos L^* , a^* y b^* fueron registrados mediante la aplicación móvil ColorGrab, metodología basada en el artículo (Peng et al., 2019)

Finalmente, se tomó 1 ml del extracto para la determinación de azúcares reductores mediante el método DNS (ácido 3,5-dinitrosalicílico), siguiendo el protocolo estándar de Miller (1959), donde se relacionó la concentración de azúcares reductores a través de la densidad óptica del color con un espectrofotómetro a 540 nm. Al obtener los diferentes valores de absorbancia, estos se correlacionaron con una curva de calibración de un patrón de glucosa de 1g/l., con el fin de realizar la corrección correspondiente en el cálculo del rendimiento.

3.2.6. Concentración del colorante y determinación del rendimiento

El extracto obtenido fue concentrado mediante un rotoevaporador digital (DLAB RE100-Pro, China) empleando una presión de 180 mbar, velocidad de rotación de 200rpm, baño frío a 8°C y una temperatura inicial de 50 °C para favorecer la recuperación del etanol. Posteriormente, la temperatura se incrementó hasta 55 °C con el fin de reducir el contenido de agua hasta obtener un volumen aproximado de $12 \text{ ml} \pm 2\text{ml}$ de colorante concentrado. El concentrado se llevó a un horno de convección operado a 40°C, registrando el peso periódicamente hasta obtener peso constante, valor que correspondió a la masa de extracto seco obtenido.

El rendimiento fue calculado en base húmeda y base seca, realizando la corrección por el contenido de azúcares reductores, según la ecuación 1:

$$R(\%) = \frac{m_{\text{colorante}} - m_{\text{azúcares}}}{m_{\text{semilla}}} \times 100 \quad (\text{Ec. 1})$$

Donde $m_{\text{colorante}}$ corresponde a la masa del extracto seco obtenido (g), $m_{\text{azúcares}}$ a la masa de azúcares determinada por el método DNS (g) y m_{semilla} a la masa de la semilla utilizada (g).

3.2.7 Análisis estadístico

Los datos experimentales fueron analizados mediante estadística descriptiva calculando la media, desviación estándar y coeficiente de variación para cada tratamiento. Debido a que los ensayos fueron realizados a escala de laboratorio, se consideraron aceptables valores de CV inferiores al 15 %, criterio empleado para verificar la consistencia de los resultados obtenidos en los experimentos realizados por triplicado. Posteriormente, se realizó un análisis de varianza factorial (ANOVA) con un nivel de significancia del 95 %. Las comparaciones múltiples de medias se realizaron mediante la prueba de Tukey (HSD), calculando la diferencia mínima significativa a partir de los valores críticos del rango studentizado (q) para un nivel de significancia $\alpha=0,05$, considerando los grados de libertad del error y el número de tratamientos comparados. Los cálculos se realizaron de forma manual empleando Microsoft Excel®.

3.2.8 Determinación de la concentración del colorante

La concentración del colorante se determinó a partir de los extractos obtenidos bajo la condición de extracción seleccionada mediante análisis estadístico para las etapas posteriores del proyecto. Para cada una de las réplicas consideradas, se calculó la concentración como la relación entre la masa de colorante, corregida por el contenido de azúcares reductores, y el volumen del concentrado correspondiente. El promedio de estos valores se estableció como la

concentración característica del extracto obtenido, empleada como referencia para los cálculos siguientes.

3.2.9 Evaluación de la respuesta colorimétrica preliminar del extracto

Con el fin de evaluar la respuesta colorimétrica del extracto frente a diferentes valores de pH y seleccionar la concentración de colorante a emplear en el biomaterial de soporte, se prepararon soluciones buffer de pH 3, 4, 6, 7, 9 y 11. A partir de la concentración promedio del extracto determinada en la sección 3.2.8, se evaluaron cuatro niveles de concentración equivalentes al 1, 2, 5 y 10% de dicha concentración. Para cada nivel, el volumen de colorante a adicionar fue calculado mediante la ecuación de dilución, ecuación 2:

$$V_1C_1 = V_2C_2 \quad (\text{Ec. 2})$$

Donde V_1 corresponde al volumen de extracto a adicionar (ml), C_1 a la concentración promedio del extracto (g/ml), V_2 al volumen total final de la mezcla (2 ml) y C_2 a la concentración objetivo correspondiente a cada fracción evaluada (1, 2, 5 y 10% respecto a C_1).

El volumen restante hasta completar los 2 ml fue aportado por la solución buffer correspondiente a cada valor de pH. Las muestras fueron homogeneizadas mediante un Vortex (Thermo Scientific. LP Vortex Mixer, Estados Unidos) y posteriormente analizadas en la cámara de adquisición de imágenes descrita en la sección 3.2.5, registrando los parámetros L^* , a^* y b^* . En el sistema CIELab, L^* representa la luminosidad (de 0, negro, a 100, blanco), a^* corresponde al eje verde-rojo (valores negativos hacia el verde y positivos hacia el rojo) y b^* al eje azul-amarillo (valores negativos hacia el azul y positivos hacia el amarillo).

A partir de los valores L^* , a^* y b^* obtenidos, se calculó la diferencia de color (ΔE) entre pares de pH consecutivos [ΔE (3-4), ΔE (4-6), ΔE (6-7), ΔE (7-9) y ΔE (9-11)] y entre los valores extremos [ΔE (3-11)], empleando la ecuación CIE76 (ecuación 3):

$$\Delta E = \sqrt{(L_2 - L_1)^2 + (a_2 - a_1)^2 + (b_2 - b_1)^2} \quad (\text{Ec. 3})$$

El valor de ΔE expresa la distancia entre dos colores en el espacio CIELab y, por tanto, la magnitud del cambio de color percibido. Para interpretar estos valores en términos de percepción visual se adoptó la escala propuesta por Mokrzycki & Tatol (2011), verificada experimentalmente, que clasifica la diferencia de color en cinco intervalos: para ΔE entre 0 y 1 el observador no percibe diferencia; entre 1 y 2 la diferencia es percibida únicamente por un observador experimentado; entre 2 y 3,5 también la percibe un observador no experimentado; entre 3,5 y 5 la diferencia es claramente apreciable; y para ΔE superior a 5 los colores se perciben como distintos. A partir de esta escala se estableció el valor de $\Delta E = 5$ como umbral de referencia, por corresponder al punto en que dos colores resultan diferenciables a simple vista, criterio acorde con la finalidad del colorante como indicador de pH de lectura visual.

Adicionalmente, se calculó el croma (C^*) como medida de la intensidad o saturación del color, a partir de la expresión:

$$C^* = \sqrt{a^2 + b^2} \quad (\text{Ec. 4})$$

Ambos parámetros se emplearon como criterios para la selección de la concentración de colorante a incorporar en el biomaterial de soporte en la fase 2.

3.3 Fase 2: Incorporación del colorante en el biomaterial de soporte y evaluación de su respuesta colorimétrica

3.3.1 Preparación del biomaterial de soporte

Para continuar con la segunda fase, se prepararon biomateriales de soporte a base de almidón de papa comercial (MadreTierra, Colombia), glicerol USP como plastificante (SUQUIN S.A.S, Colombia) y el colorante natural extraído bajo la condición de extracción seleccionada. Se evaluaron dos concentraciones de almidón: 4% y 10% (m/v).

Para la preparación de cada formulación se fijó un volumen total de 100 ml, conformado por agua destilada y el colorante en la concentración seleccionada en la sección 3.2.9. Se adicionó el agua destilada en un vaso precipitado metálico de 250 ml, se añadió el almidón y se mezcló mediante un agitador mecánico (Lightnin 33498, Estados Unidos) a 400 rpm durante 15 minutos a temperatura ambiente para favorecer la dispersión homogénea. Finalizado este tiempo, la mezcla fue sometida a calentamiento sobre una plancha de calentamiento (DLAB, MS7-H550-S, China) bajo la agitación constante a la velocidad mencionada. Al alcanzar la temperatura de 50°C, se incorporó el glicerol en una proporción del 40% respecto a la masa del almidón y el colorante. Se continuó calentando hasta alcanzar la temperatura de gelatinización (67°C), llegado a este punto se mantuvo la temperatura durante 10 minutos adicionales para favorecer la homogenización del sistema.

Transcurrido los 10 minutos, se adicionaron aproximadamente 25 ml de la mezcla en moldes rectangulares de plástico de 12 cm × 8 cm y 3 mm de profundidad. Posteriormente, los moldes fueron llevados a un horno de convección a 40 °C durante aproximadamente 24 h para favorecer la evaporación del agua. Finalizado el secado, las películas fueron retiradas de los moldes para su posterior evaluación colorimétrica.

3.3.2 Evaluación de la respuesta colorimétrica del biomaterial

La respuesta colorimétrica de los biomateriales obtenidos con ambas concentraciones de almidón (4% y 10% m/v) fue evaluada mediante su exposición a soluciones buffer de diferentes valores de pH. Para ello, se utilizaron las mismas soluciones buffer descritas en la sección 3.2.9. A partir de las películas obtenidas, se cortaron muestras cuadradas de 2 cm × 2 cm, las cuales fueron sumergidas individualmente en 5ml de cada solución buffer durante 5 minutos.

Transcurrido el tiempo de contacto, las películas fueron retiradas de las soluciones y evaluadas colorimétricamente mediante la cámara previamente descrita en la sección 3.2.5. Debido al carácter semitransparente de las películas obtenidas, se empleó un soporte blanco de dimensiones ligeramente superiores a la muestra con el fin de proporcionar un fondo uniforme durante la captura de imágenes. Los parámetros colorimétricos L^* , a^* y b^* fueron registrados mediante la aplicación móvil ColorGrab en el dispositivo (Redmi Note 9, China). A partir de las coordenadas cromáticas obtenidas se calcularon la diferencia de color (ΔE) y el croma (C^*), empleando las ecuaciones (3) y (4) descritas anteriormente. Esto permitió comparar la respuesta colorimétrica de los biomateriales frente a los diferentes valores de pH y evaluar su comportamiento como indicador, según el contenido de almidón.

4. Resultados

4.1 Fase 1: Obtención del colorante natural

4.1.1 Caracterización de la materia prima

El contenido de humedad de la semilla de aguacate comúnmente denominado “criollo”, determinado en base húmeda fue de $64,19 \pm 0,44\%$, con un coeficiente de variación inferior al 1%. Esta baja dispersión indica una alta reproducibilidad entre las muestras que se analizaron. El valor refleja que la semilla fresca retiene una gran proporción de agua en su composición, comportamiento esperado al haberse procesado inmediatamente luego de su separación de la pulpa, sin etapas previas de secado. El valor de humedad obtenido es consistente con lo reportado para la semilla de aguacate cultivado en Colombia en estado de madurez de consumo por Ceballos & Montoya, (2013), quienes registraron contenidos de humedad de 65,39%, 66,09% y 70,05% para tres variedades de aguacate (Booth8, Trinidad y Papelillo). La leve diferencia que se observó puede atribuirse a la variedad evaluada, en este caso el aguacate criollo, así como al grado de madurez al momento del análisis. El valor obtenido se empleó

para corregir el volumen de agua a utilizar durante la preparación de las soluciones extractantes, garantizando así la proporción exacta de solvente en cada condición experimental.

4.1.2 Rendimiento de extracción

Con el fin de estimar la proporción de compuestos no pigmentarios co-extraídos, se determinó el contenido de azúcares reductores mediante el método DNS para cada condición experimental. Dado que estos azúcares provienen principalmente del almidón de la semilla, su magnitud se expresó como porcentaje de recuperación respecto al contenido teórico de almidón, tomando como referencia un valor promedio del 30 % en base seca, estimado a partir de valores reportados en la literatura para diferentes semillas de aguacate; valor correspondiente a un máximo teórico de azúcares del 33.3% para la unidad experimental de esta investigación. Los contenidos de azúcar y su recuperación se presentan en el Apéndice A, estos representaron entre el 14,45% y el 27,70%, influenciados principalmente por la cantidad de agua del solvente de extracción. Para las tres temperaturas ensayadas, la relación 30:70 presentó los valores más altos (27,70%, 19,65% y 17,63% a 30, 40 y 50 °C respectivamente) y la relación 70:30 los más bajos (18,59%, 14,45% y 16,68 %), lo que es consistente con el carácter hidrofílico de los azúcares reductores. Esta tendencia no fue estrictamente monótona: en la condición de 50 °C, la relación 50:50 (20.35%) superó a la 30:70 (17,63%). Estos valores muestran que logro co-extraer máximo un 27,70% del almidón presenta en la semilla como azúcares reductores usando el ultrasonido. Dado que los azúcares reductores no contribuyen a la respuesta colorimétrica de interés, esta fracción se descontó en el cálculo del rendimiento de extracción del colorante conforme a la Ecuación 1, de modo que representara únicamente la masa atribuible al colorante.

Los rendimientos corregidos para el colorante se determinaron para los nueve tratamientos por triplicado, y se expresan como un promedio con su respectiva desviación estándar, en base húmeda y en base seca (Tabla 1). El rendimiento medio en base húmeda

osciló entre 3,68 % y 5,13 %, y en base seca entre 10,28 % y 14,32 %; en ambas bases, el valor más alto se obtuvo en el tratamiento de 50 °C con una relación etanol:agua de 30:70.

Tabla 1

Rendimiento de extracción en base húmeda y base seca (%), corregido por azúcares reductores (DNS)

T (°C)	Etanol:Agua	Rendimiento base húmeda (%)	Rendimiento base seca (%)	CV (%)
30	50-50	4,06 ± 1,21	11,34 ± 3,39	29,89
	70-30	3,68 ± 1,44	10,28 ± 4,01	38,97
	30-70	4,06 ± 0,61	11,35 ± 1,71	15,04
40	50-50	4,40 ± 1,56	12,30 ± 4,34	35,31
	70-30	4,83 ± 0,48	13,49 ± 1,34	9,92
	30-70	3,97 ± 0,60	11,08 ± 1,68	15,18
50	50-50	5,10 ± 0,39	14,24 ± 1,08	7,58
	70-30	4,32 ± 0,92	12,07 ± 2,58	21,37
	30-70	5,13 ± 0,59	14,32 ± 1,65	11,55

Al comparar la dispersión entre las réplicas, el comportamiento resultó bastante heterogéneo. Algunos tratamientos fueron muy consistentes, con coeficientes de variación por debajo del 10, por ejemplo, 9,9 % en 40 °C 70:30 y 7,6 % en 50 °C 50:50, mientras que otros superaron ampliamente el 15 % (criterio definido en la sección 3.2.7), llegando a valores cercanos al 39 %. Esta variabilidad se relaciona con las condiciones propias del montaje experimental: la semilla de aguacate criollo es una materia prima no estandarizada, con diferencias de composición y madurez entre frutos, asimismo el proceso se ejecutó de forma manual a escala de laboratorio, donde pequeñas diferencias en la operación se reflejan con facilidad en el resultado. Adicionalmente, al tratarse de un procedimiento desarrollado por dos personas, no se descarta la influencia del error de operador, asociado a ligeras variaciones en la ejecución del ensayo entre réplicas.

4.1.3 Análisis estadístico

Para evaluar el efecto de la temperatura y de la relación etanol:agua sobre el rendimiento, se realizó un análisis de varianza factorial (ANOVA). Al analizar todos los datos, ningún factor ni su interacción resultó estadísticamente significativo (temperatura $p = 0,20$; relación de solvente $p = 0,83$; interacción $p = 0,86$) (Apéndice B). Los resultados del ANOVA confirmaron que, para el conjunto completo de datos ($n=27$), ninguno de los factores evaluados (temperatura, relación etanol:agua, interacción) presentó un efecto estadísticamente significativo sobre el rendimiento de extracción. Este resultado es coherente con la elevada dispersión entre réplicas descrita previamente, donde varios tratamientos superaron el umbral de CV, alcanzando valores de hasta 39 %. La alta variabilidad intra-tratamiento reduce la potencia del análisis de varianza para detectar diferencias entre niveles de los factores, lo cual explica la ausencia de significancia estadística en este primer análisis.

Dado que el primer objetivo específico de este trabajo estuvo orientado a analizar el efecto de la temperatura y la relación etanol:agua sobre la obtención del colorante y considerando que el desarrollo de la Fase 2 requería contar con una condición de extracción definida, se realizó un análisis complementario sobre los datos. Para cada tratamiento se identificó el valor que presentó la mayor diferencia respecto a las otras dos réplicas, y se conservaron los dos valores restantes, de mayor proximidad entre sí, la media, la desviación estándar y el coeficiente de variación resultantes se reportan en la Tabla 2. Es importante señalar que este procedimiento no implicó la eliminación de los datos originales, los cuales se presentan en su totalidad en la Tabla 1, sino que constituyó un criterio operativo para avanzar con la selección de una condición de extracción para la Fase 2 del proyecto.

Tabla 2*Rendimiento de extracción en base húmeda, corregido por azúcares reductores (DNS)**acotada a 2 réplicas*

T (°C)	Etanol: Agua	Media (%)	CV (%)
30	50-50	4,74 ± 0,42	8,78
	70-30	4,51 ± 0,21	4,74
	30-70	4,41 ± 0,16	3,59
40	50-50	3,58 ± 0,89	24,75
	70-30	4,57 ± 0,20	4,31
	30-70	3,65 ± 0,35	9,72
50	50-50	4,90 ± 0,22	4,41
	70-30	3,82 ± 0,46	11,95
	30-70	5,46 ± 0,23	4,25

Sobre este conjunto se repitió el ANOVA factorial (Tabla 3). Allí la temperatura resultó significativa ($F[2, 9] = 6,22$; $p = 0,020$), mientras que la relación etanol:agua no mostró un efecto significativo ($F[2, 9] = 0,38$, $p = 0,69$). La interacción entre ambos factores también fue significativa ($F[4, 9] = 5,97$, $p = 0,013$), lo que indica que el efecto de la temperatura sobre el rendimiento depende de la proporción de solvente empleada. Este cambio respecto al triplicado completo se explica por la reducción del cuadrado medio del error, que pasó de 1,127 a 0,166 al disminuir la dispersión dentro de los tratamientos; al reducirse la varianza residual, los efectos de los factores pudieron diferenciarse del fondo de variabilidad.

Tabla 3*Resultados del análisis ANOVA con los datos acotados*

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Muestra	2,0684	2	1,0342	6,222	0,0201	4,2565
Columnas	0,1262	2	0,0631	0,38	0,6946	4,2565
Interacción	3,9676	4	0,9919	5,967	0,0126	3,6331
Dentro del grupo	1,496	9	0,1662			
Total	7,6582	17				

Dado que la interacción entre temperatura y relación etanol:agua resultó significativa, la prueba de Tukey (HSD=1,61) se aplicó sobre las medias de los nueve tratamientos (Tabla 4).

Tabla 4

Distribución de grupos según la prueba de Tukey de acuerdo con su significancia

Tratamiento	Media (%)	Grupo (Tukey, HSD=1,61)
50°C – 30:70	5,46	a
50°C – 50:50	4,9	ab
30°C – 50:50	4,74	ab
40°C – 70:30	4,57	ab
30°C – 70:30	4,51	ab
30°C – 30:70	4,41	ab
50°C – 70:30	3,82	b
40°C – 30:70	3,65	b
40°C – 50:50	3,58	b

Los tratamientos que comparten al menos una letra no presentan diferencias significativas entre sí. En este caso, la combinación 50°C–30:70 (5,46%) fue la única clasificada exclusivamente en el grupo “a”, mientras que las combinaciones de menor rendimiento se clasificaron en el grupo “b”. Esto indica que la diferencia entre 50°C–30:70 y estos tres tratamientos es estadísticamente significativa. Las cinco combinaciones restantes se clasificaron en el grupo “ab”, lo que indica que no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre estas y los grupos “a” y “b”. En consecuencia, dado que 50°C–30:70 fue la única combinación clasificada exclusivamente en el grupo “a” y presentó además el valor promedio más alto entre los nueve tratamientos (5,46%), esta combinación fue seleccionada como la condición de extracción para la Fase 2 del proyecto.

Más allá del análisis estadístico, la selección de la combinación 50°C–30:70 (etanol:agua) como condición de extracción para la Fase 2 también puede interpretarse a partir de los mecanismos fisicoquímicos asociados a la extracción de compuestos fenólicos. La

discusión presentada a continuación permite relacionar estos mecanismos con el efecto de la temperatura, la relación etanol:agua y la interacción significativa observada entre ambos factores.

En cuanto a la temperatura, el incremento del rendimiento al pasar de 40°C a 50°C es consistente con un estudio sobre hojas de fresa, donde se determinó que 50°C proporcionó la mayor concentración de compuestos fenólicos, atribuyéndose este resultado a que a temperaturas elevadas aumentan la difusión y la solubilidad de los analitos en el solvente (Salazar Garcés et al., 2023). Este comportamiento es coherente con los principios de transferencia de masa: a mayor temperatura disminuye la viscosidad del solvente y aumenta el coeficiente de difusión de los compuestos fenólicos hacia el solvente.

En cuanto a la relación etanol:agua, el mayor rendimiento obtenido con la proporción 30:70 es coherente con estudios de optimización de extracción asistida por ultrasonido en otras matrices. En un trabajo sobre quinoa mediante metodología de superficie de respuesta, se reportó que el contenido de polifenoles totales aumentó al disminuir la concentración de etanol, identificándose un óptimo cercano al 39% de etanol y 54°C (Luisetti et al., 2020), valores próximos a los obtenidos en este análisis estadístico. De forma similar, en un trabajo sobre extracción de compuestos fenólicos a partir de subproductos lignocelulósicos, optimizado mediante diseño de superficie de respuesta, el mayor contenido fenólico se obtuvo con proporciones de etanol entre 30% y 54% y temperaturas entre 45°C y 60°C (Benito de Valle-Prieto et al., 2025). La condición seleccionada en este proyecto se ubica dentro de ambos rangos, lo cual sigue ratificando la condición del proceso escogida para la obtención del mayor rendimiento del colorante de la semilla de aguacate usando ultrasonido como técnica no convencional de separación.

La significancia de la interacción entre temperatura y la relación etanol:agua, sin un efecto independiente de la relación de solvente, también encuentra fundamento teórico. El rendimiento de la extracción de compuestos fenólicos depende en gran medida de la polaridad del disolvente, y esta dependencia está determinada por la composición química de los compuestos a extraer, particularmente por sus grupos hidroxilo y tamaño molecular (Soto-García & Rosales-Castro, 2016), lo que implica que el efecto de la relación etanol:agua no es constante, sino que depende del nivel de energía disponible para la difusión, gobernado por la temperatura. Asimismo, se ha reportado que un mayor contenido de agua favorece el hinchamiento de la matriz vegetal y la apertura de su estructura celular, facilitando la penetración del solvente y la difusión de los compuestos fenólicos (Novi et al., 2025). Estos mecanismos resultan particularmente relevantes para la semilla de aguacate, cuyo perfil fitoquímico, descrito en el estado del arte y caracterizado por el predominio de derivados del ácido cafeico, catequina, epicatequina y procianidinas tipo A y B (Salazar-López et al., 2020), presenta un elevado grado de hidroxilación que favorece la formación de puentes de hidrógeno con el agua, lo cual es coherente con el mayor rendimiento obtenido en la combinación con mayor contenido de agua.

No obstante, no toda la literatura reporta proporciones similares como óptimas: en un estudio sobre pulpa liofilizada, la mezcla 70:30 etanol:agua presentó los mejores resultados, atribuyéndose esto a que el disolvente determina el tipo de compuestos extraídos según su polaridad (Muñoz et al., 2015). Esta aparente discrepancia refuerza que la proporción óptima depende de la composición fenólica de cada matriz: en matrices con compuestos más apolares, mayor etanol favorece su extracción, mientras que, en la semilla de aguacate, con predominio de compuestos polares, una mayor proporción de agua resulta más favorable, como se evidenció en este estudio. En conjunto, estos antecedentes respaldan la combinación 50°C–30:70 como una condición coherente con los mecanismos fisicoquímicos de extracción de

compuestos fenólicos y con el perfil fitoquímico de la semilla de aguacate, reforzando su selección para el desarrollo de la Fase 2 del proyecto.

4.1.4 Caracterización del colorante obtenido bajo la condición seleccionada

El colorante extraído bajo la condición seleccionada (50 °C, relación etanol:agua 30:70) fue caracterizado en términos de pH, color y contenido de azúcares reductores, considerando el promedio de las dos réplicas obtenidas para dicha condición. El extracto presentó un pH de 5,75, valor ligeramente ácido coherente con la naturaleza fenólica de los compuestos extraídos. En cuanto al color, se registraron valores de $L^* = 83,65$, $a^* = 5,05$ y $b^* = 84,30$. El valor de b^* marcadamente positivo, acompañado de un a^* bajo y también positivo, resultados que describen un color predominantemente amarillo con un leve componente naranja, mientras que el valor de L^* cercano a 84 refleja la elevada luminosidad del extracto líquido obtenido tras las etapas de separación. Esta coloración es consistente con la que Hatzakis et al. (2019) atribuyeron a la “*Perseorangina*”, pigmento responsable del color en los extractos de semilla de aguacate, descrito como un sólido amarillo-naranja. El contenido de azúcares reductores del extracto, determinado por el método DNS, fue del 29.38% del contenido total de la extracción. Este es el valor empleado en la corrección del rendimiento descrita en la sección 4.1.2, y su cuantificación evidencia la coextracción de compuestos solubles no cromóforos junto con el pigmento de interés.

4.1.5 Determinación de la concentración de sólidos solubles en el extracto

Para la condición seleccionada, se obtuvo una concentración característica de 0,06 g/ml (Tabla 5), calculada según el procedimiento descrito en la sección 3.2.8. Este valor se empleó como concentración de partida para el cálculo de las diluciones evaluadas en la determinación de la respuesta colorimétrica frente al pH (sección 4.1.6)

Tabla 5

Determinación de la concentración característica del colorante bajo la condición seleccionada

Réplica	Masa del colorante [g]	Volumen concentrado [ml]	Concentración [g/ml]
1	0.75	11	0.07
2	0.71	13	0.05
Promedio (concentración característica [g/ml])			0.06

4.1.6 Respuesta colorimétrica preliminar del extracto frente al pH y selección de la concentración

La Figura 2 muestra el color desarrollado por cada concentración a lo largo de la escala de pH, donde se aprecia un desplazamiento general del colorante desde tonos amarillos en medio ácido hacia anaranjados y rojizos a medida que aumenta la alcalinidad. Este comportamiento es característico de los indicadores basados en colorantes naturales, en los cuales las variaciones de pH inducen modificaciones estructurales en los grupos cromóforos del pigmento, alterando su absorción de luz y, en consecuencia, el color percibido (Ahmad et al., 2018).

Figura 2

Respuesta colorimétrica de las cuatro concentraciones de colorante frente a soluciones buffer de pH 3 a 11

		pH 3	pH 4	pH 6	pH 7	pH 9	pH 11
Concentración del colorante	1%	L* = 97.7 a* = -14.6 b* = 50.5	L* = 90.1 a* = -13.4 b* = 44.1	L* = 81.3 a* = -4.2 b* = 40.6	L* = 86.5 a* = -0.5 b* = 53.0	L* = 71.1 a* = 8.5 b* = 64.1	L* = 52.3 a* = 22.4 b* = 59.7
	2%	L* = 97.4 a* = -19.6 b* = 78.7	L* = 96.8 a* = -20.1 b* = 84.6	L* = 96.4 a* = -18.9 b* = 89.3	L* = 91.0 a* = -9.8 b* = 88.4	L* = 71.0 a* = 32.3 b* = 76.4	L* = 55.7 a* = 43.2 b* = 64.6
	5%	L* = 97.3 a* = -20.6 b* = 86.3	L* = 97.1 a* = -21.8 b* = 93.9	L* = 93.5 a* = -14.8 b* = 91.6	L* = 88.0 a* = 1.3 b* = 86.2	L* = 69.1 a* = 37.8 b* = 75.2	L* = 51.6 a* = 70.7 b* = 64.5
	10%	L* = 97.2 a* = -21.0 b* = 89.7	L* = 97.2 a* = -21.3 b* = 92.1	L* = 95.9 a* = -19.0 b* = 91.9	L* = 83.2 a* = 5.8 b* = 83.3	L* = 63.3 a* = 52.3 b* = 71.9	L* = 52.8 a* = 76.4 b* = 66.3

En términos de las coordenadas colorimétricas, este cambio se reflejó principalmente en la componente a^* , que varió desde valores negativos en medio ácido, asociados a la región verde, hacia valores marcadamente positivos, en medio alcalino, correspondientes a la región roja. El componente b^* , en cambio, se mantuvo en valores positivos elevados a lo largo de toda la escala, indicando una contribución amarilla persistente. Este comportamiento explica la transición observada desde los amarillos hacia los tonos anaranjados y rojizos.

Dado que el colorante incorporado deberá permitir una lectura visual de los cambios de pH, la concentración seleccionada debía producir variaciones de color lo suficientemente perceptibles a simple vista, característica deseable en este tipo de indicadores (Choi et al., 2017; Sohany et al., 2021). Esto implica atender a dos aspectos complementarios del color: que las diferencias entre valores de pH sean lo suficientemente marcadas para distinguirse, y que el color presente una intensidad suficiente para una lectura clara. El primero se evaluó mediante la diferencia de color (ΔE) y el segundo mediante el croma (C^*). Los valores obtenidos para cada concentración se presentan en la Tabla 6, y su interpretación se realizó conforme a la escala de percepción visual descrita en la sección 3.2.9.

Tabla 6

Diferencias de color (ΔE) entre pares de pH consecutivos y entre los extremos de la escala, para cada concentración

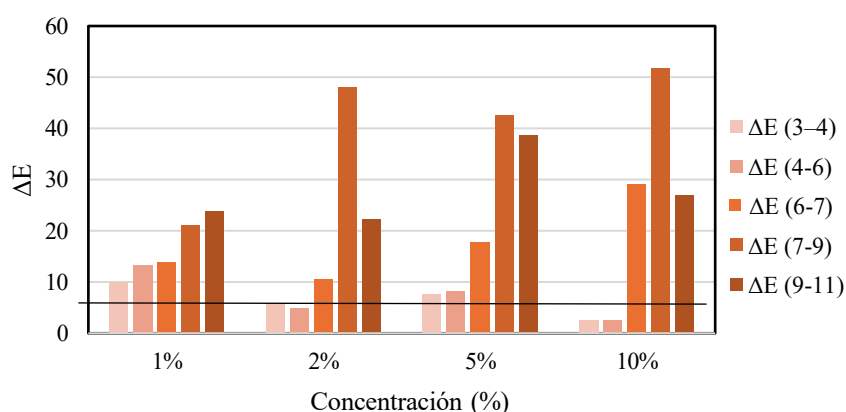
Concentración	ΔE (3–11)	ΔE (3–4)	ΔE (4–6)	ΔE (6–7)	ΔE (7–9)	ΔE (9–11)
1%	59,29	10,01	13,20	13,95	21,01	23,79
2%	76,69	5,95	4,87	10,62	48,13	22,18
5%	104,40	7,70	8,20	17,85	42,55	38,77
10%	109,57	2,42	2,65	29,16	51,85	26,88

La selección se realizó de manera secuencial, evaluando primero la capacidad del colorante para diferenciar entre valores de pH cercanos. El criterio determinante fue que cada

par de pH consecutivo cumpliera con el umbral de color establecido en la sección 3.2.9. La figura 3 permite visualizar este comportamiento de manera conjunta para las cuatro concentraciones. La línea continua señala el umbral de percepción de colores distintos ($\Delta E = 5$)

Figura 3

Gráfica de barras ΔE entre pares de pH consecutivos por concentración



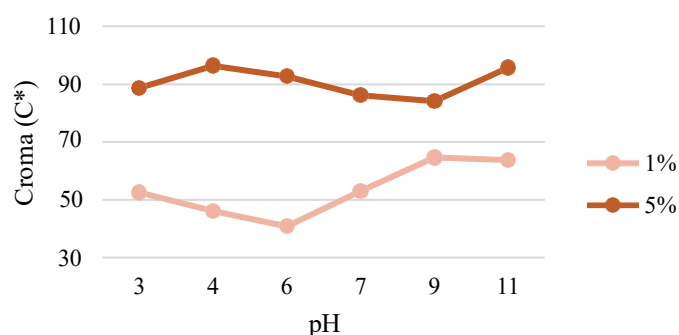
Bajo el criterio mencionado, la concentración del 2% y del 10% quedaron descartadas, ya que en el 2 %, la transición entre pH 4 y 6 ($\Delta E = 4,87$) se situó por debajo del umbral; de igual manera en el 10%, las transiciones entre pH 3 y 4 ($\Delta E = 2,42$) y entre pH 4 y 6 ($\Delta E = 2,65$) se ubicaron muy por debajo del umbral, lo que limitaría la diferenciación visual en la zona ácida.

Por otro lado, las concentraciones del 1 y 5 % superaron el umbral en todos sus pares consecutivos, por lo que la distinción entre ellas se definió a partir del segundo aspecto: la intensidad del color, evaluada mediante el croma (C^*). Este parámetro resulta relevante porque un colorante de tonalidades pálidas dificulta la lectura visual aun cuando las diferencias entre valores de pH sean numéricamente perceptibles. Como se observa en la Figura 4, el croma de la concentración del 1 % se mantuvo por debajo del de las demás en todo el rango de valores de pH, descendiendo hasta valores cercanos a 40 en la zona ácida, frente a valores

consistentemente superiores a 80 en la concentración del 5 %. Estas tonalidades restan claridad a la lectura visual, por lo que la concentración del 1 % fue descartada. De este modo, la concentración del 5% fue la única que reunió ambos aspectos requeridos para la lectura visual y la respuesta colorimétrica. Por este motivo, fue la concentración seleccionada para la elaboración del biomaterial de soporte.

Figura 4

Croma (C^) de la concentración 1% y 5% de colorante en función del pH*



4.2 Evaluación de la respuesta colorimétrica del colorante incorporado en el biomaterial de soporte

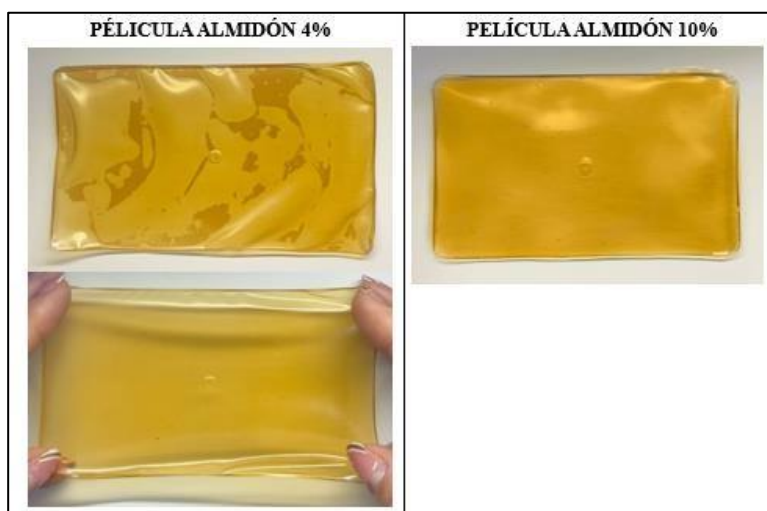
Una vez seleccionada la concentración de colorante (5%), se obtuvieron dos películas que se diferenciaron únicamente en su contenido de almidón, al 4% y al 10%. Ambas formulaciones dieron películas íntegras y manipulables, aunque con un aspecto distinto: la de 10 % resultó más gruesa y consistente, y la de 4 % más fina y frágil, diferencia que se relaciona con su menor proporción de almidón. Para cada una de ellas se registró el color, donde el biomaterial de 4% presentó coordenadas $L^* = 69,6$, $a^* = 3,5$ y $b^* = 69,3$; y el de 10 %, $L^* = 63,5$, $a^* = 9,6$ y $b^* = 67,6$.

La fragilidad de la película al 4% se evidenció desde la primera captura de imagen ya que, al apoyarla sobre el fondo blanco de soporte, generó cierta adherencia a él. Para minimizar

este efecto, se sostuvo levemente sus esquinas durante el registro fotográfico, como se aprecia en la Figura 5. Esta situación no se presentó en la película de 10 %, la cual se mantuvo firme por sí misma sin necesidad de sostén adicional.

Figura 5

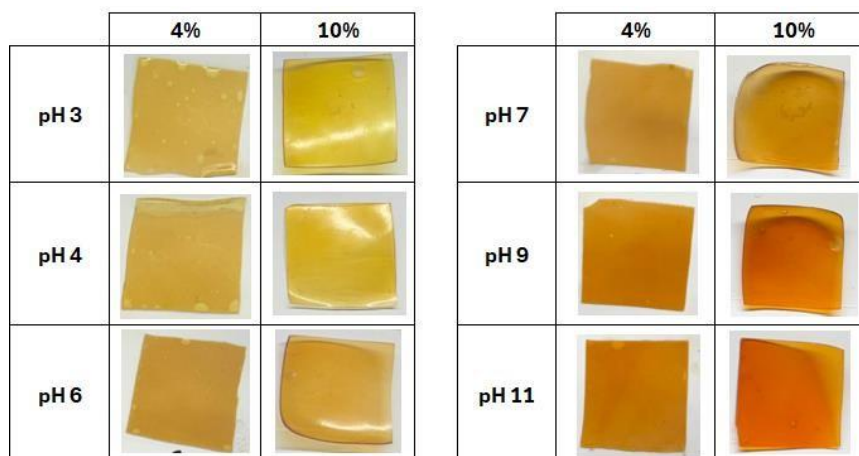
Aspecto inicial de los biomateriales de almidón al 4% y 10% con colorante incorporado, antes de la exposición a las soluciones buffer



Tras la exposición de las probetas de cada biopelícula a las soluciones buffer, el colorante conservó su capacidad de respuesta dentro de la matriz, el color cambió de tonos amarillos en medio ácido hacia anaranjados y rojizos en el medio alcalino, igual que el colorante libre (evaluado en la sección 4.1.6). La Figura 6 muestra este comportamiento en ambas formulaciones; las diferencias de color (ΔE) entre pares de pH consecutivos y entre los extremos de la escala se recogen en la Tabla 7, y las coordenadas L^* , a^* y b^* de cada combinación, en el Apéndice C.

Figura 6

Respuesta colorimétrica de los biomateriales al 4 % y 10 % de almidón frente a soluciones buffer de pH 3 a 11

**Tabla 7**

Diferencias de color (ΔE) entre pares de pH consecutivos y entre los extremos de la escala, para los biomateriales al 4 % y 10 % de almidón

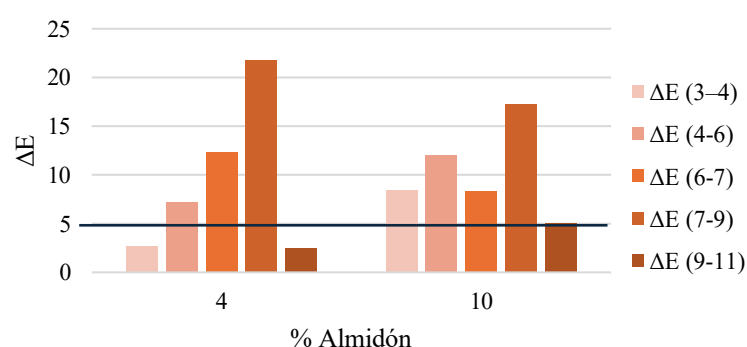
Almidón %	ΔE (3-11)	ΔE (3-4)	ΔE (4-6)	ΔE (6-7)	ΔE (7-9)	ΔE (9-11)
4	40,16	2,64	7,21	12,35	21,74	2,45
10	37,26	8,47	11,99	8,33	17,26	5,04

Lo primero que se logró observar al comparar los resultados con los del colorante libre es una atenuación marcada del cambio de color. En solución, el extracto a la concentración del 5% había alcanzado una diferencia entre los extremos de la escala (ΔE 3-11) de 104,40; dentro de las películas, ese valor cayó a 40,16 en el biomaterial de 4 % y a 37,26 en el de 10 %, una reducción superior al 60% en ambos casos. Esto se debe a que el colorante deja de estar libre, es decir, en solución. Anteriormente en la sección 4.1.6, el pigmento está disuelto y expuesto al buffer, de modo que reacciona por completo al cambio de pH; al quedar incorporado en la biopelícula, en cambio, se inmoviliza y se dispersa dentro de la red del almidón, y solo la fracción que el buffer alcanza a penetrar logra responder (Choi et al., 2017). Adicionalmente,

el color de fondo que aporta la propia matriz de almidón y glicerol se superpone al del colorante y reduce el contraste que se percibe. Sin embargo, la respuesta al cambio de pH se mantiene en las dos formulaciones de almidón. Una vez realizada esta comparación general, la evaluación se centró en contrastar los dos biomateriales entre sí, con los mismos criterios usados al seleccionar la concentración. En cuanto a la diferenciación, la película de 10% mantuvo todas sus transiciones consecutivas por encima del umbral de percepción ($\Delta E = 5$), mientras que el de 4% cayó por debajo en dos tramos, entre pH 3 y 4 ($\Delta E = 2,64$) y entre pH 9 y 11 ($\Delta E = 2,45$); en estas zonas, dos valores de pH se verían casi iguales. La respuesta de la película de 4% se concentró en la parte media de la escala (pH 6 a 9), mientras que la del 10% se distribuyó de forma más pareja y cubrió todo el rango sin zonas planas o poco diferenciables como se puede observar en la figura 7. La línea continua señala el umbral de percepción de colores distintos ($\Delta E = 5$).

Figura 7

Diferencia de color (ΔE) entre pares de pH consecutivos para los biomateriales al 4% y 10%

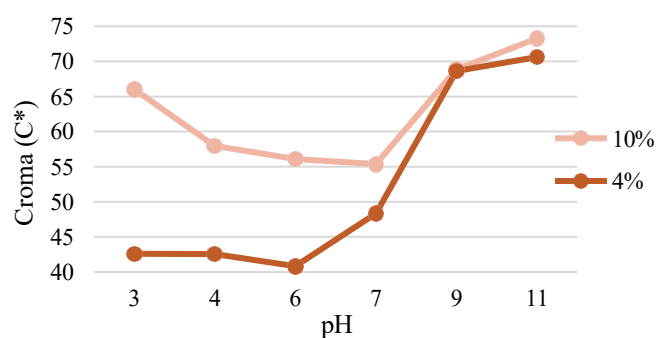


La razón de esta diferencia está mediada por fenómenos de transferencia de masa específicamente en cuánto colorante retiene cada película al sumergirse en el buffer. Durante la inmersión, parte del pigmento tiende a transferirse del biomaterial hacia la solución, y ese colorante que se libera deja de aportar color a la película. La formulación con más almidón

forma una red más compacta que retiene mejor el pigmento y limita esa transferencia no deseada, de modo que conserva más colorante y asimismo una respuesta de color más firme (Che Hamzah et al., 2022). Adicionalmente, esa retención se refleja en la intensidad del color. Las dos películas partieron de un croma inicial parecido (69,4 el biomaterial de 4% y 68,3 el de 10%), de modo que antes de sumergirse en los buffers eran igual de intensas. La diferencia apareció tras la inmersión, ya que el croma del biomaterial de 10% terminó por encima del de 4% en todos los valores de pH como se observa en la figura 8, con un promedio de 62,9 frente a 52,3. Es decir, la palidez del color del biomaterial de 4% no venía desde su origen, sino que surgió al perder colorante durante el contacto con el buffer. El de 10% por otro lado, al retener mejor el pigmento, conservó un color más saturado en cada pH, haciendo más fácil su lectura de color a simple vista.

Figura 8

Croma (C) de los biomateriales al 4% y 10 % de almidón en función del pH.*



Respecto al comportamiento físico durante la inmersión, el biomaterial de 4% tendió a reblandecerse y perder firmeza al sumergirse, mientras que el de 10% conservó mejor su integridad inicial. No se hicieron ensayos mecánicos que permitieran medir esta diferencia con exactitud, por lo que se reporta como una observación visual netamente cualitativa.

En conjunto, el biomaterial con almidón al 10 % ofreció la respuesta más adecuada para funcionar como indicador, ya que se evidenció una mayor diferencia en cada uno de los valores

de pH consecutivos, conservó un color más intenso tras la inmersión, adicionalmente mantuvo mejor su integridad durante el contacto con las soluciones. El biomaterial de 4 % también respondió al pH, pero con una diferenciación menos pareja y una mayor pérdida de color y firmeza.

5. Conclusiones

El efecto de la temperatura y la relación etanol:agua sobre el rendimiento dependió de la dispersión de los datos: con el triplicado completo, ningún factor resultó significativo, debido a la alta variabilidad entre réplicas (CV de hasta 39%), propia de una materia prima no estandarizada y un procedimiento manual a escala de laboratorio; al reducir esa dispersión, la temperatura y su interacción con la relación de solvente sí influyeron significativamente, mientras que la relación etanol:agua, de forma aislada, no mostró efecto. La combinación 50°C–30:70 presentó el mayor rendimiento (5,46%) y fue la única clasificada exclusivamente en el grupo superior según Tukey, selección coherente con el perfil fenólico polar de la semilla de aguacate reportado en la literatura.

El extracto obtenido bajo esa condición presentó un pH ligeramente ácido (5,75) y una coloración amarillo-anaranjada ($L^* = 83,65$, $a^* = 5,05$, $b^* = 84,30$) consistente con la perseorangina, compuesto cromóforo característico descrito para la semilla de aguacate. A partir de la concentración de colorante en el extracto (0,06 g/ml), la dilución al 5% fue la única que reunió diferenciación entre todos los pares de pH consecutivos ($\Delta E \geq 5$) e intensidad de color suficiente para la lectura visual (C^*), por lo que fue el parámetro de proceso escogido para la elaboración del biomaterial.

Incorporado en la matriz de almidón, el colorante mantuvo su respuesta al pH en las dos formulaciones, aunque con un rango de color atenuado frente al colorante libre, comportamiento esperable al quedar el pigmento inmovilizado en la red del almidón. Entre

ambas, la película al 10% diferenció la totalidad de los pares de pH sin zonas planas, retuvo más color tras la inmersión y conservó mejor su integridad física, lo que la identificó como la formulación más adecuada para esta aplicación.

En conjunto, el colorante de la semilla de aguacate comúnmente denominado criollo, incorporado en un biomaterial de soporte a base de almidón de papa, respondió de forma visible y coherente a las variaciones de pH, lo que respalda su viabilidad como indicador natural.

6. Recomendaciones

Se recomienda aumentar el número de réplicas por tratamiento en estudios futuros, dada la alta variabilidad observada (CV~20% en promedio), con el fin de mejorar la potencia del análisis de varianza.

Se recomienda establecer criterios más estrictos de selección y estandarización de la materia prima, como el control del estado de madurez y el tiempo entre la obtención del fruto y su procesamiento, dado que parte de la variabilidad observada se asoció a la heterogeneidad propia de la semilla de aguacate.

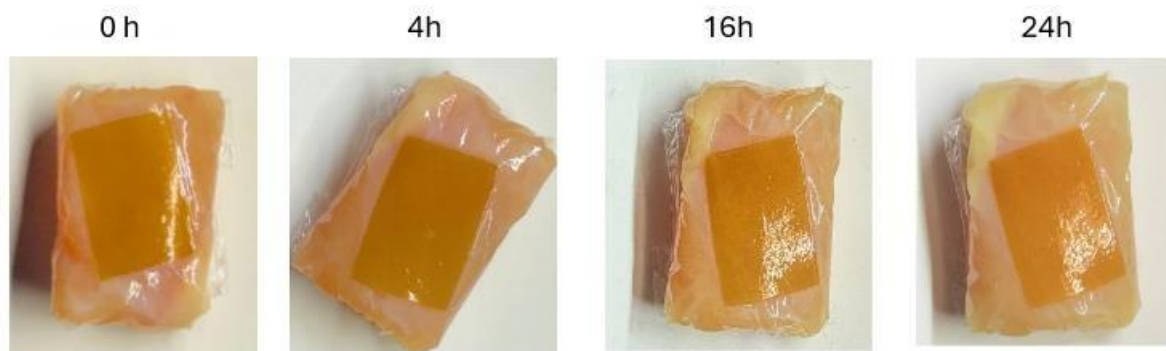
Se recomienda evaluar la estabilidad térmica del colorante, dado que los pigmentos naturales suelen ser sensibles a la temperatura, mediante su exposición a distintas temperaturas y tiempos con seguimiento de sus parámetros colorimétricos.

Se recomienda realizar ensayos mecánicos (tensión, elongación) y evaluar propiedades de barrera, como la permeabilidad al vapor de agua, para cuantificar de forma objetiva el desempeño físico del biomaterial como soporte.

Dado que el biomaterial desarrollado respondió de forma visible a cambios de pH, una posible aplicación a explorar en trabajos futuros es su uso como indicador de estado de conservación en la industria de alimentos, que permita monitorear visualmente el estado de un producto a partir de su color. Como una primera exploración en esta dirección, no contemplada en los objetivos de este trabajo, se observó el comportamiento del biomaterial en contacto directo con un alimento real (pollo) durante 24 horas, evidenciándose un cambio visual en su coloración a lo largo del tiempo como se observa en la figura 9.

Figura 9

Cambio de color del biomaterial expuesto en un pollo a través del tiempo



Si bien esta observación es preliminar y no contó con réplicas, controles ni mediciones colorimétricas cuantitativas, se recomienda profundizar en esta línea mediante un diseño experimental en donde se incluyan réplicas, controles sin colorante, mediciones cuantitativas de color y de pH del alimento, y comparación con métodos de referencia para evaluar el deterioro.

Referencias bibliográficas

- Ahmad, N. A., Heng, L. Y., Salam, F., & Hanifah, S. A. (2018). Potential study of bilberry extract as a pH indicator to monitor food freshness by chromametry[Kajian potensi ekstrak bilberi sebagai penunjuk ph untuk memantau kesegaran makanan secara kromametri]. *Sains Malaysiana*, 47(11), 2685–2691. <https://doi.org/10.17576/jsm-2018-4711-11>
- Arlene, A. A., Prima, K. A., Utama, L., & Anggraini, S. A. (2015). The Preliminary Study of the Dye Extraction from the Avocado Seed Using Ultrasonic Assisted Extraction. *Procedia Chemistry*, 16, 334–340. <https://doi.org/10.1016/J.PROCHE.2015.12.061>
- Badui Dergal, S. (2006). *Química de los alimentos*. www.pearsoneducacion.net
- Chavez-Marquez, E., Bernedo, M. S. B., de Jara, E. M., Quequezana-Bedregal, M. J., Gutierrez-Oppe, E. E., & Pessôa Filho, P. de A. (2023). Development of intelligent and active potato starch films based on purple corn cob extract and molle essential oil. *International Journal of Biological Macromolecules*, 242(Pt 3). <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.125080>
- Che Hamzah, N. H., Khairuddin, N., Muhamad, I. I., Hassan, M. A., Ngaini, Z., & Sarbini, S. R. (2022). Characterisation and Colour Response of Smart Sago Starch-Based Packaging Films Incorporated with Brassica oleracea Anthocyanin. *Membranes* 2022, Vol. 12, Page 913, 12(10), 913. <https://doi.org/10.3390/MEMBRANES12100913>
- Choi, I., Lee, J. Y., Lacroix, M., & Han, J. (2017). Intelligent pH indicator film composed of agar/potato starch and anthocyanin extracts from purple sweet potato. *Food Chemistry*, 218, 122–128. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2016.09.050>
- Dabas, D., Elias, R. J., Lambert, J. D., & Ziegler, G. R. (2011). A Colored Avocado Seed Extract as a Potential Natural Colorant. *Journal of Food Science*, 76(9). <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2011.02415.x>
- de Dios Avila, N., Tirado-Gallegos, J. M., Rios-Velasco, C., Luna Esquivel, G., Estrada Virgen, M. O., Cambero Campos, O. J., de Dios Avila, N., Tirado-Gallegos, J. M., Rios-Velasco, C., Luna Esquivel, G., Estrada Virgen, M. O., & Cambero Campos, O. J. (2023). Propiedades composicionales, estructurales y fisicoquímicas de las semillas de aguacate y sus potenciales usos agroindustriales. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 24(1), 2607. https://doi.org/10.21930/RCTA.VOL24_NUM1_ART:2607
- De Mejia, E. G., Zhang, Q., Penta, K., Eroglu, A., & Lila, M. A. (2020). The Colors of Health: Chemistry, Bioactivity, and Market Demand for Colorful Foods and Natural Food Sources of Colorants. *Annual Review of Food Science and Technology*, 11(Volume 11, 2020), 145–182. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV-FOOD-032519-051729/CITE/REFWORKS>
- Dent, M., Dragovic-Uzelac, V., Garofulic, I. E., Bosiljkov, T., Ježek, D., & Brncic, M. (2015). Comparison of conventional and ultrasound-assisted extraction techniques on

- mass fraction of phenolic compounds from sage (*Salvia officinalis* L.). *Chemical and Biochemical Engineering Quarterly*, 29(3), 475–484.
<https://doi.org/10.15255/CABEQ.2015.2168>
- Desai, M., Parikh, J., & Parikh, P. A. (2010). Extraction of Natural Products Using Microwaves as a Heat Source. *Separation & Purification Reviews*, 39(1–2), 1–32.
<https://doi.org/10.1080/15422111003662320>
- Ekrem Parlak, M., Irmak Sahin, O., Neslihan Dundar, A., Türker Saricaoglu, F., Smaoui, S., Goksen, G., Koirala, P., Al-Asmari, F., & Prakash Nirmal, N. (2024). Natural colorant incorporated biopolymers-based pH-sensing films for indicating the food product quality and safety. *Food Chemistry*, 439, 138160.
<https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2023.138160>
- Extracción verde de compuestos fenólicos a partir de subproductos lignocelulósicos de la dehesa - Conama Local 2025*. (n.d.). Retrieved June 13, 2026, from <https://www.conamalocal.org/comunicaciones/extraccion-verde-de-compuestos-fenolicos-a-partir-de-subproductos-lignocelulosicos-de-la-dehesa/>
- FAOSTAT. (2024). *FAOSTAT: Crops and livestock products. Food and Agriculture Organization of the United Nations*. <https://www.fao.org/faostat>
- Féliz-Jiménez, A., & Sanchez-Rosario, R. (2024). Bioactive Compounds, Composition and Potential Applications of Avocado Agro-Industrial Residues: A Review. *Applied Sciences* 2024, Vol. 14, Page 10070, 14(21), 10070.
<https://doi.org/10.3390/APP142110070>
- García, J. S. A., Hurtado-Salazar, A., & Ceballos-Aguirre, N. (2021). Current overview of hass avocado in colombia. Challenges and opportunities: A review[Visão geral atual do abacate hass na colômbia. Desafios e oportunidades: uma revisão]. *Ciencia Rural*, 51(8).
<https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20200903>
- Gürses, A., Açıkyıldız, M., Güneş, K., & Şahin, E. (2023). Natural dyes and pigments in food and beverages. In *Renewable Dyes and Pigments* (pp. 49–76). Elsevier.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-443-15213-9.00013-2>
- Hatzakis, E., Mazzola, E. P., Shegog, R. M., Ziegler, G. R., & Lambert, J. D. (2019). Perseorangin: A natural pigment from avocado (*Persea americana*) seed. *Food Chemistry*, 293, 15–22. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2019.04.064>
- Herrera-Rodríguez, T. C., & González-Delgado, Á. D. (2025). Inherent Safety Index Evaluation of an Extractive-Based Creole-Antillean Avocado Biorefinery in Montes De María, Colombia. *Sustainability (Switzerland)*, 17(1).
<https://doi.org/10.3390/su17010168>
- Herrera-Rodríguez, T. C., Parejo-Palacio, V., & González-Delgado, Á. D. (2025). Exergetic Evaluation of an avocado (*Laurus Persea* L.) Biorefinery in Northern Colombia.

- Chemical Engineering Transactions*, 117, 595–600.
<https://doi.org/10.3303/CET25117100>
- Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación. (1994). NTC 1248. Productos agrícolas. Aguacate. ICONTEC.
- Kumar, K., Srivastav, S., & Sharanagat, V. S. (2021). Ultrasound assisted extraction (UAE) of bioactive compounds from fruit and vegetable processing by-products: A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 70. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2020.105325>
- Luisetti, J., Lucero, H., & Ciappini, M. C. (2020). Estudio preliminar para optimizar la extracción de compuestos fenólicos bioactivos de quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd). *Revista de Ciencia y Tecnología*, (33), 1–10.
https://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1851-75872020000100012&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- Mao, Y., Robinson, J. P., & Binner, E. R. (2023). Current status of microwave-assisted extraction of pectin. *Chemical Engineering Journal*, 473, 145261.
<https://doi.org/10.1016/J.CEJ.2023.145261>
- María Ceballos, A. P., & Montoya, S. B. (2013). EVALUACIÓN QUÍMICA DE LA FIBRA EN SEMILLA CHEMICAL EVALUATION OF FIBER NIB, PULP AND THREE SHELL AVOCADO VARIETIES AVALIAÇÃO QUÍMICA EM SEMENTES, POLPA E CASCA DE TRÊS VARIEDADES DE ABACATE. *Biotecnología En El Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 11(1), 103–112.
- Miramontes-Corona, C., Torres-Santiago, G., Rodriguez, M. M. J., Corona-González, R. I., & Toriz, G. (2024). Phenolic profile, antioxidant activity and antimicrobial properties of avocado (*Persea americana*) seed extracts. *Chemical Papers* 2024 78:8, 78(8), 5061–5069. <https://doi.org/10.1007/S11696-024-03452-Z>
- Mokrzycki Cardinal Stefan, W., & Tatol, M. (n.d.). *Color difference Delta E-A survey Colour difference ΔE-A survey*. Retrieved June 10, 2026, from <https://www.researchgate.net/publication/236023905>
- Muñoz, W., Chavez, W., Pabón, L. C., Rendón, M. R., Patricia-Chaparro, M., & Otálvaro-Álvarez, Á. M. (2015). Extracción de compuestos fenólicos con actividad antioxidante a partir de Champa (*Campomanesia lineatifolia*). *Revista CENIC Ciencias Químicas*, 46, 38–46.
- Ngamwonglumlert, L., Devahastin, S., & Chiewchan, N. (2017). Natural colorants: Pigment stability and extraction yield enhancement via utilization of appropriate pretreatment and extraction methods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(15), 3243–3259. <https://doi.org/10.1080/10408398.2015.1109498>
- Novi, F. U., Rizky, M. S., Chorry, S. I., & Shintia, R. (2025). Analysis of Solvent Concentration Effect and Extraction Method on The Total Phenolic of Syzygium

- myrtifolium. *Walp. Leaf Extract. Pharmacogn J*, 17(4), 461–469.
<https://doi.org/10.5530/pj.2025.17.59>
- Nyakang'i, C. O., Ebere, R., Marete, E., & Arimi, J. M. (2023). Avocado production in Kenya in relation to the world, Avocado by-products (seeds and peels) functionality and utilization in food products. *Applied Food Research*, 3(1).
<https://doi.org/10.1016/j.afres.2023.100275>
- Peng, B., Zhou, J., Xu, J., Fan, M., Ma, Y., Zhou, M., Li, T., & Zhao, S. (2019). A smartphone-based colorimetry after dispersive liquid–liquid microextraction for rapid quantification of calcium in water and food samples. *Microchemical Journal*, 149, 104072. <https://doi.org/10.1016/J.MICROC.2019.104072>
- Razola-Díaz, M. del C., Verardo, V., Guerra-Hernández, E. J., García-Villanova Ruiz, B., & Gómez-Caravaca, A. M. (2023). Response Surface Methodology for the Optimization of Flavan-3-ols Extraction from Avocado By-Products via Sonotrode Ultrasound-Assisted Extraction. *Antioxidants*, 12(7), 1409. <https://doi.org/10.3390/ANTIOX12071409/S1>
- Rodríguez-Martínez, B., Romani, A., Eibes, G., Garrote, G., Gullón, B., & del Río, P. G. (2022). Potential and prospects for utilization of avocado by-products in integrated biorefineries. *Bioresource Technology*, 364, 128034.
<https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2022.128034>
- Salazar Garcés, E. C., Sailema Ortiz, M. L., Palacios Duchicela, R. H., Carrera Borja, W. X., & Zambrano Mendoza, C. A. (2023). Efecto de solvente y temperatura para la extracción de compuestos fenólicos en hojas de fresa. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*, 7(3), 2563–2575. https://doi.org/10.37811/CL_RCM.V7I3.6365
- Salazar-López, N. J., Domínguez-Avila, J. A., Yahia, E. M., Belmonte-Herrera, B. H., Wall-Medrano, A., Montalvo-González, E., & González-Aguilar, G. A. (2020). Avocado fruit and by-products as potential sources of bioactive compounds. *Food Research International*, 138, 109774. <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2020.109774>
- Sohany, M., Tawakkal, I. S. M. A., Ariffin, S. H., Shah, N. N. A. K., & Yusof, Y. A. (2021). Characterization of Anthocyanin Associated Purple Sweet Potato Starch and Peel-Based pH Indicator Films. *Foods 2021, Vol. 10, Page 2005*, 10(9), 2005.
<https://doi.org/10.3390/FOODS10092005>
- Soto-García, M., & Rosales-Castro, M. (2016). Efecto del solvente y de la relación masa/solvente, sobre la extracción de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante de extractos de corteza de *Pinus durangensis* y *Quercus sideroxyla*. *Maderas. Ciencia y Tecnología*, 18(4), 701–714. <https://doi.org/10.4067/S0718-221X2016005000061>
- Tavassoli, M., Sani, M. A., Khezerlou, A., Ehsani, A., Jahed-Khaniki, G., & McClements, D. J. (2022). Smart Biopolymer-Based Nanocomposite Materials Containing pH-Sensing Colorimetric Indicators for Food Freshness Monitoring. *Molecules*, 27(10).
<https://doi.org/10.3390/molecules27103168>

- Tesfaye, T., Ayele, M., Gibril, M., Ferede, E., Limeneh, D. Y., & Kong, F. (2022). Beneficiation of avocado processing industry by-product: A review on future prospect. *Current Research in Green and Sustainable Chemistry*, 5, 100253. <https://doi.org/10.1016/j.crgsc.2021.100253>
- Wen, C., Zhang, J., Zhang, H., Dzah, C. S., Zandile, M., Duan, Y., Ma, H., & Luo, X. (2018). Advances in ultrasound assisted extraction of bioactive compounds from cash crops – A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 48, 538–549. <https://doi.org/10.1016/J.ULTSONCH.2018.07.018>
- Yue, Y., Qiu, Z. D., Qu, X. Y., Deng, A. P., Yuan, Y., Huang, L. Q., & Lai, C. J. S. (2018). Discoursing on Soxhlet extraction of ginseng using association analysis and scanning electron microscopy. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 8(5), 312–317. <https://doi.org/10.1016/J.JPHA.2018.08.003>

Apéndices

Apéndice A

Azúcares reductores coextraídos (método DNS) y su recuperación respecto al contenido teórico de almidón de la semilla, expresados como promedio

T (°C)	Etanol:Agua	Azúcares base seca (%)	Recuperación respecto al almidón teórico (%)
30	50-50	6.52	19.59
	70-30	6.19	18.59
	30-70	9.23	27.70
40	50-50	5.94	17.82
	70-30	4.81	14.45
	30-70	6.54	19.65
50	50-50	6.78	20.35
	70-30	5.55	16.68
	30-70	5.87	17.63

Apéndice B

Resultados análisis ANOVA con los triplicados

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Muestra	3,9668	2	1,9834	1,7593	0,2005	3,5545
Columnas	0,4298	2	0,2149	0,1906	0,8280	3,5545
Interacción	1,4203	4	0,3550	0,3149	0,8642	2,9277
Dentro del grupo	20,2928	18	1,1273			
Total	26,1099	26				

Apéndice C*Parámetros L^* , a^* y b^* de las biopelículas con diferente concentración de almidón*

Almidón %	Parámetro	pH 3	pH 4	pH 6	pH 7	pH 9	pH 11
4	L^*	86,1	84,8	78,6	69,3	64,4	63,3
	a^*	-0,2	2,1	5,2	9,5	20,5	22
	b^*	42,6	42,5	40,5	47,4	65,5	67,1
10	L^*	82,9	80,8	71,7	65,4	61,6	63,1
	a^*	-6,5	-4,3	3,3	8,6	21,6	24,9
	b^*	65,7	57,8	56	54,7	65,4	68,9