

45  
29.

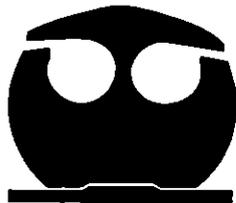


UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

CARACTERIZACION DEL ACEITE DEL FRUTO DE LA  
PALMA *Orbignya guacuyule*

T E S I S  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
QUIMICA DE ALIMENTOS  
P R E S E N T A  
ALBA ELENA ROJAS TLALOLINI



MEXICO, D.F.



EXAMENES PROFESIONALES  
FAC. DE QUIMICA

1998

267791

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## JURADO ASIGNADO

<b>Presidente</b>	<b>Prof. POZAS HORCASITAS ROCIO</b>
<b>Vocal</b>	<b>Prof. VIADES TREJO JOSEFINA</b>
<b>Secretario</b>	<b>Prof. PEÑA ALVAREZ ARACELI PATRICIA</b>
<b>1er Suplente</b>	<b>Prof. DUARTE LISCI GEORGINA ARTEMISA</b>
<b>2º Suplente</b>	<b>Prof. SOUSA ROJANO HUGO</b>

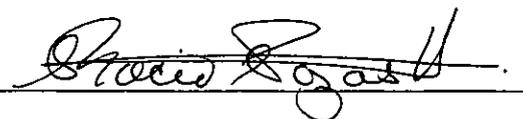
### SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA:

Laboratorio 208 del departamento de Química Orgánica y laboratorio 101 de la División de Estudios de Posgrado de la Facultad de Química. UNAM.

Laboratorio 4-A de Tecnología de Alimentos de la Facultad de Química. UNAM

### ASESOR:

Dra. POZAS HORCASITAS ROCIO



### SUSTENTANTE

ALBA ELENA ROJAS TLALOLINI



## DEDICATORIAS

A MIS PADRES: MANUEL ROJAS ROMERO Y MERCEDES TLALOLINI CHOLULA

*PAPÁ: Este trabajo te lo dedico a ti, porque tu más que nadie se lo merece, por tu apoyo y esa fé que depositaste en cada uno de nosotros y por darnos siempre lo mejor de ti, tu ejemplo,. Admiro la gran fuerza con la que has afrontado situaciones tan difíciles, a pesar de eso tú estás aquí y siempre serás el pilar más fuerte sobre el cual se sostiene nuestra familia.*

*MAMÁ: Aunque no estas con nosotros, siempre estas presente y se que tu igual que yo te sentirías feliz*

A mi esposo: DAVID MENDOZA INFANTE

*Por ser muy especial en mi vida, por su gran amor y apoyo incondicional en todo momento.*

A MIS HERMANOS

*Jose, Benito, Manuel, Judith, Edith y Jesus: por todo su apoyo y por estar conmigo en muchas etapas importantes de mi vida, valoro todo sus detalles y espero que siempre estemos unidos*

*A mi abuelita FELIPA y mis tíos INES Y JAVIER por formar parte de mi vida y ayudarme cuando lo necesite.*

A MIS AMIGOS Y COMPAÑEROS: que hicieron muy agradable mi estancia en la Universidad y por haber compartido momentos agradables y aún siguen estando conmigo

## AGRADECIMIENTOS

*Mi más sincero agradecimiento a la Dra. ROCIO POZAS HORCASITAS por tener confianza en mi, por su valiosos ayuda y apoyo para la realización de esta tesis y por compartir conmigo su gran experiencia.*

*A la Dra. ARACELI PEÑA ALVAREZ por su valiosa aportación en la realización de este trabajo.*

*Al M.en C. LINO REYES: por sus valiosos consejos y sus aportaciones a este trabajo.*

*Al Dr. Hermilo Quero Rico: por su valiosa colaboración y compartir sus conocimientos que fueron de gran ayuda para la realización de este trabajo.*

**“...cualquiera que pueda cultivar dos mazorcas de maíz en un pedazo de tierra donde sólo crecía una antes....prestará un servicio mas esencial a su país que toda la raza de políticos junta.....”**

**Michael J. Balick**



*Orbignya guacuyule*

# INDICE

Pag.

<b>1. INTRODUCCION</b>	1
<b>2. OBJETIVOS</b>	3
<b>3. ANTECEDENTES</b>	
<b>2.1 Características de la Palma <i>Orbignya guacuyule</i></b>	4
<b>2.2 Palmas silvestres</b>	6
<b>2.3 Producción de Aceites vegetales en México</b>	6
<b>2.4 Amarillamiento Letal</b>	8
<b>2.5 Análisis Proximal</b>	10
<b>2.6 Métodos de Extracción</b>	15
2.6.1 Extracción por presión	15
2.6.2 Extracción por disolventes	16
2.6.3 Extracción por enzimas	17
<b>2.7 Grasas y Aceites Vegetales</b>	18
2.7.1 Composición química de las grasas	19
2.7.2 Componentes minoritarios de las grasas	22
2.7.3 Reacciones químicas de los aceites y grasas	24
<b>2.8 Análisis de aceites y grasas</b>	27
2.8.1 Características de identidad	28
2.8.2 Características de Calidad	32
2.8.3 Contaminantes en aceites y grasas	35
2.8.4 Estabilidad en aceites y grasas	35
<b>2.9 Cromatografía de gases</b>	37
<b>2.10 Porcentaje de sólidos en grasas y aceites</b>	40
2.10.1 Dilatometría	41
2.10.2 Resonancia Magnética Nuclear	41
<b>4.-METODOLOGIA EXPERIMENTAL</b>	
<b>Diagrama</b>	42
<b>4.1 Identificación de la Muestra</b>	43
4.1.1 Origen de la muestra	43
4.1.2 Reconocimiento del fruto	43
<b>4.2 Realización del Análisis Proximal</b>	41
<b>4.3 Extracción del Aceite de la Semilla de <i>Orbignya guacuyule</i></b>	44
4.3.1 Método por disolventes	44
4.3.2 Método por prensa	44
4.3.3. Método enzimático	45
<b>4.4 Análisis Físicoquímico del Aceite de <i>Orbignya guacuyule</i></b>	46
<b>4.5 Identificación de los Acidos Grasos Constituyentes del Aceite de</b>	46

## ***Orbignya guacuyule* por Cromatografía de Gases Capilar.**

<b>5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	
<b>5.1 Análisis Físico del Fruto de <i>Orbignya guacuyule</i> obtenido en los tres métodos de extracción</b>	51
<b>5.2 Análisis Proximal del Fruto de la Palma <i>Orbignya guacuyule</i></b>	53
5.2.1 Análisis proximal de coco Cocos nucífera	54
<b>5.3 Eficiencia de los Métodos de Extracción</b>	55
<b>5.4 Análisis Fisicoquímico del Aceite de <i>Orbignya guacuyule</i></b>	56
5.4.1 Características de identidad	56
5.4.2 Características de calidad	63
5.4.3 Presencia Contaminantes	65
<b>5.5. Ácidos Grasos Constituyentes del Aceite de <i>Orbignya guacuyule</i></b>	67
5.5.1 Porcentaje Relativo de ácidos grasos en el aceite de <i>Orbignya guacuyule</i>	68
<b>5.6 Porcentaje de Sólidos en el Aceite de <i>Orbignya guacuyule</i> (RMN)</b>	73
<b>5.7 Prueba de Estabilidad</b>	75
<b>6. CONCLUSIONES</b>	76
<b>7.-BIBLIOGRAFIA</b>	78
<b>APENDICE I</b>	82
<b>APENDICE II</b>	84
<b>APENDICE III</b>	86

# CAPITULO 1

## INTRODUCCION

El presente trabajo surge como parte de un proyecto implementado en la Facultad de Ciencias Políticas y Sociales que tiene como objetivo crear unidades de producción en comunidades campesinas de la Zona Mixteca en las costas de Oaxaca que les permita mejorar sus condiciones económicas, aprovechando mejor los recursos que les ofrece su entorno. Este trabajo tiene como objetivo caracterizar el aceite del fruto de la palma *Orbignya guacuyule* y de esta forma encontrar aplicaciones comerciales para dicho aceite, lo que puede contribuir a su mejor aprovechamiento y comercialización, ya que en esta zona se encuentra un gran número de estas palmas y no son debidamente aprovechadas. Para lograr dicho objetivo, en primer lugar se hizo la clasificación botánica de la palma, para lo cual se contó con la colaboración del Dr. Hermilo Quero Rico del Jardín Botánico de la UNAM<sup>52</sup>, quién identificó a la palma como *Orbignya guacuyule*. Por otra parte, para conocer los componentes del fruto se realizó un análisis proximal del mismo, encontrándose que el principal componente es aceite, con un 72.9 %. El aceite del fruto se extrajo por tres métodos: Disolventes, enzimático y por prensa, de los cuales el método de mayor rendimiento fue por disolventes. Se identificaron y cuantificaron los ácidos grasos constituyentes del aceite por Cromatografía de Gases Capilar, de lo que se obtuvo que este aceite contiene los mismos ácidos grasos que el aceite de coco (*Cocos nucifera*), únicamente varía su proporción. Por otra parte se realizaron pruebas fisicoquímicas de identidad y calidad al aceite obtenido por cada método de extracción; se determinó el contenido de grasa sólida en el aceite por resonancia magnética nuclear a 10, 20, 30, 35 y

40° C. También se obtuvo la estabilidad del aceite por el Método del Oxígeno Activo. Una gran ventaja de la palma *Orbignya guacuyule* es su resistencia al Amarillamiento Letal que es una enfermedad de las palmas de Cocos nucífera y amenaza mundialmente su producción. Por tal razón es necesario encontrar nuevas alternativas para la extracción de aceites vegetales en nuestro país, ya que en el periodo 96-97 se ha detectado un incremento en la importación a México de aceites vegetales, principalmente aceite de palma, semilla de palma, girasol y coco. Así, la palma *Orbignya guacuyule* pudiera ser una de éstas alternativas. Un método innovador y prometedor para cultivar ésta palma sería plantarlas en ecosistemas naturales o bosques parcialmente deforestados.

## **CAPITULO 2**

### **OBJETIVOS**

#### **2.1 OBJETIVOS GENERALES.**

- Dar a conocer a las palmas silvestres como alternativa para la extracción de aceites y grasas
- Caracterizar el aceite del fruto de la palma *orbignya guacuyule* y de esta forma presentar alternativas de utilización para una mejor comercialización del fruto

#### **2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- ◆ Realizar un análisis proximal del fruto de la palma *orbignya guacuyule*.
- ◆ Determinar el mejor método de extracción del aceite en el fruto.
- ◆ Determinar las características de identidad y calidad en el aceite de *orbignya guacuyule*
- ◆ Determinar los ácidos grasos que constituyen al aceite.
- ◆ Realizar pruebas de estabilidad en el aceite.
- ◆ Determinar el perfil de sólidos del aceite por resonancia magnética nuclear.

## CAPITULO 3

### ANTECEDENTES

#### 3.1 CARACTERISTICAS DE LA PALMA *Orbignya guacuyule*.

*Orbignya guacuyule* es una palma silvestre que llega a medir 15 m de altura, tiene un tronco de 40 a 50 cm de grosor, con hojas pinadas agrupadas en la extremidad del tallo de longitud de hasta 7 a 8 m de largo y 4.5 m de ancho.<sup>56</sup> Tiene numerosos frutos ovoides de aproximadamente 28 g; que cubre a la semilla por medio de tres capas, la primera de las cuales, llamada epicarpio, que es de consistencia fibrosa y se elimina fácilmente cuando el fruto está seco. Hacia el interior las fibras se van conglomerando para formar una capa más gruesa llamada mesocarpio, que constituye la segunda capa y la tercera es el endocarpio o hueso, de aproximadamente 0.7 cm de grosor, es muy duro, difícil de romper y cubre a la semilla, que es una almendra ovalada y a su vez esta cubierta con una capa muy delgada de color café con surcos transversales y longitudinales, su interior es de color blanco y al fragmentarse presenta una gran cantidad de grasa; su peso es de 3.6 a 5.7 g. La palma produce dos y ocasionalmente tres inflorescencias al año, con más de 800 frutos cada una<sup>35</sup>, lo que representa 1600 a 2400 frutos equivalente a 7.4- a 11.1 Kg de semilla y tomando en cuenta que el 72.9 % es aceite, representa una producción de 5.4 a 8.1 Kg de aceite por palma.

En México dicha palma se encuentra distribuida en la costa del Pacífico, principalmente en los estados de Oaxaca, Guerrero, Michoacán, Colima, Jalisco y Nayarit, se ha colectado en Yucatán, la parte sur de Quintana Roo y muy poco en Campeche. Crece en suelos profundos a elevaciones máximas de 400 m sobre el nivel del mar, formando parte de

selvas medianas subperenifolias en donde alcanza alturas menores, pero cuando las condiciones son modificadas para beneficiar los cultivos, puede formar palmares casi puros con alturas considerables



Figura No 3.1

Esta palma también se ha reportado con otros nombres como: *Orbignya cohune*, *Attalea cohune*, *Orbignya damneriana* y *Cocos cocoyule*; esta variedad de nombres se debe a que las palmas silvestres no han sido estudiadas completamente y algunas veces se les identifica de acuerdo al lugar de origen, lo que complica la identificación y revisión bibliográfica. Se han encontrado pocos datos en la literatura sobre palmas silvestres, en particular para *Orbignya guacuyule*. Sin embargo existen algunas publicaciones<sup>1,4,8,25,30</sup> que se refieren a palmas silvestres entre ellas al género *Orbignya*. Este género también es conocido en algunas zonas de América Latina como cohune, babasú en Brasil y corozo en Colombia. Estas palmas son de gran importancia para la región y principalmente para Brasil, en donde su cultivo abarca millones de hectáreas que se destinan principalmente a la producción de aceite<sup>4</sup>.

**3.2 PALMAS SILVESTRES.-** Las palmas que se han estudiado como fuente de aceites y grasas, contienen casi exclusivamente aceites láuricos. De los datos de productividad reportados para palmas silvestres se ha encontrado que muchas de éstas tienen rendimientos de aceite por kilogramo más alto que las semillas oleaginosas tradicionales como: Soya, maíz, algodón y oliva<sup>30</sup>, por lo que es necesario impulsar el cultivo de estas palmas para incrementar el rendimiento y aprovecharlas como fuente de aceites comestibles<sup>30</sup>. También sería conveniente hacer hibridaciones y seleccionar entre ellas una palma de tamaño uniforme para el cultivo, ya que la producción requiere desarrollar frutos de mejor calidad y de esta manera evitar las cosechas irregulares de palmas silvestres. Un método innovador y prometedor para cultivar las palmas oleaginosas, sin perturbar significativamente el balance del ecosistema, sería plantarlas en ecosistemas naturales o en bosques parcialmente deforestados<sup>4</sup>.

### **3.3 PRODUCCION DE ACEITES VEGETALES EN MEXICO**

En México existe una gran deficiencia de aceites y grasas comestibles y por lo tanto, gran cantidad de estos deben importarse; por ejemplo, en 1997 la suma de las importaciones de aceites de soya, palma y coco, fue de 218790 toneladas con un valor aproximado de 127.5 millones de dólares<sup>5</sup>, por lo que es necesario buscar nuevas fuentes de aceites y grasas que permitan incrementar su producción.

El aceite de palma se obtiene del fruto de la especie *Elaeis guineensis*; el aceite de semilla de palma (kernel de palma), proviene de la semilla que está dentro del fruto de ésta palma y el aceite de coco se extrae de la pulpa seca (copra), del fruto de la palma *Cocos nucifera*.

En la tabla 3.1 se muestran datos de la producción de copra en México de 1995 y 1996

## Producción anual de Copra en México

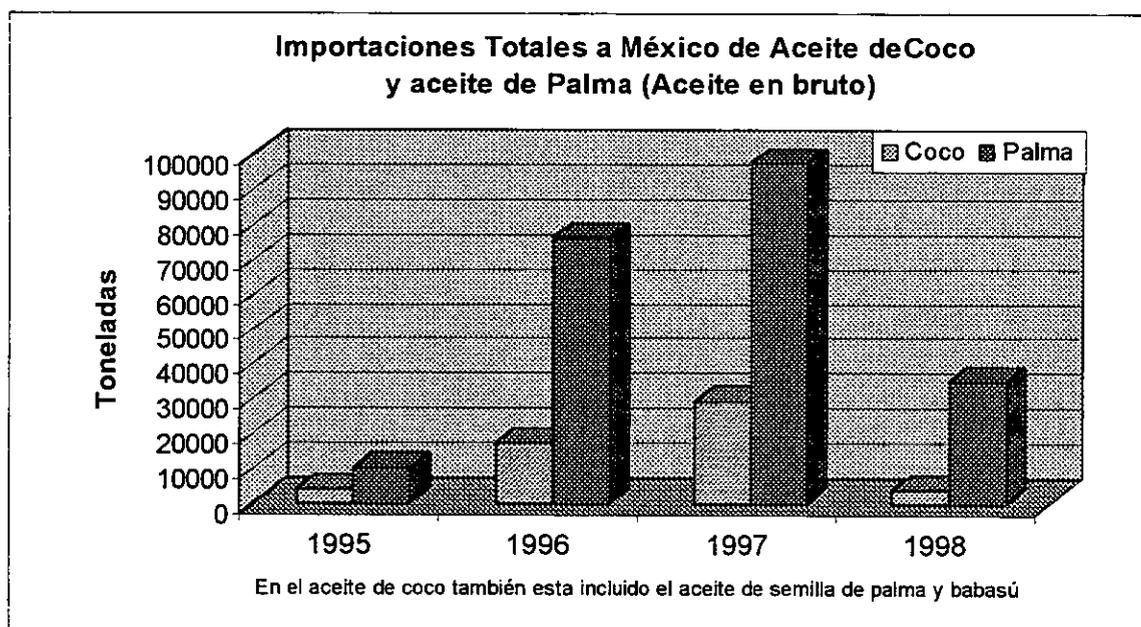
Estado	1995		1996	
	Toneladas	Valor (\$)	Toneladas	Valor (\$)
Campeche	1271	3177500	450	1350000
Chiapas	1050	1050000	1000	1000000
Colima	45500	60705000	47050	177617900
Guerrero	114885	314067000	104582	358974040
Jalisco	5350	12305000	5312	15893500
Michoacán	5465	6284700	9175	37492670
Oaxaca	12230	30574500	10780	43120000
Tabasco	28990	72475000	23716	92492400
Veracruz	1742	1742000	19599	2056950
Yucatán	26	31200	12	12000
Quintana Roo	17	22100	-----	-----
Total	216526	502434300	204036	730009460

Fuente: Producción Anual de frutas y hortalizas, 1995 y 1996; INEGI<sup>26,27</sup>

Tabla No 3.1

Como se observa en la Tabla No 3.1, la producción de copra disminuyó en el periodo 95-96, sobre todo en Tabasco y en la Península de Yucatán. Esta disminución puede reflejar también el efecto del amarillamiento letal, enfermedad de las palmas de coco (*Cocos nucifera*), que entró por Cancún e Isla Mujeres, de donde se esparció hacia el sur por la Costa del Caribe y al Oeste por Yucatán, matando gran cantidad de palmas<sup>36</sup>.

En la gráfica No.1 que se muestra a continuación, se observa que en 1996 y 1997 la importación de aceite de coco y palma (*Elaeis guineensis*), aumentó significativamente y es probable que en 1998 se conserve la misma tendencia. Entre los principales países exportadores a México de ambos aceites están: Costa Rica, Indonesia, Ecuador, Brasil, Honduras y Malasia.



Gráfica No. 3.1

Fuente: Banco Nacional de Comercio Exterior, fracciones arancelarias 1513.1001 y 1513.2101. Los datos de 1998 se tomaron hasta el 31 de mayo, por lo que no representan todo el año.

### 3.4 AMARILLAMIENTO LETAL

El amarillamiento letal es una enfermedad devastadora que ataca a las palmas de coco (*Cocos nucifera*) y que es causada por un organismo de tipo micoplasmático (OMP), transmitido por el insecto *Myndus crudus*, que se alimenta chupando el floema de las palmeras. Los primeros síntomas se observan en los primordios foliares, en donde aparecen estrías irregulares de color pardo; casi simultáneamente aparece el amarillamiento del cogollo de las hojas maduras, acompañada por la caída de los frutos. Posteriormente las hojas caen verticalmente, aunque aún suspendidas del ápice, pero luego el cogollo se pudre y se rompe, quedando únicamente un tronco torcido. El periodo de incubación de micoplasma puede ser de 7-15 meses, pero de la aparición de los primeros síntomas a la muerte de la palma transcurren solo seis meses.

La estrategia contra esta enfermedad involucra la aplicación de insecticidas, para el control de los síntomas se aplican antibióticos como oxitetraciclina, que sin embargo no ayuda para la curación, únicamente la controlan. Generalmente es necesario sustituir las poblaciones de palmas por variedades resistentes.

El amarillamiento letal fue reportado por primera vez en las Islas Caimán del Caribe a finales del siglo pasado y el primer brote epidémico se produjo en la Isla de Jamaica y de ahí se extendió a Cuba, Las Bahamas, Haití, República Dominicana, y posteriormente a Florida, en donde en solo 4 años destruyó el 90% de los cocoteros de Miami. Desde 1955 esta enfermedad ha destruido infinidad de palmas en las Grandes Antillas y el occidente de Africa. En 1973 se fundó el Consejo Internacional sobre Amarillamiento Letal (ICLY), debido a que esta enfermedad fue considerada como un problema grave. Este organismo se reúne para discutir los resultados de las investigaciones y decide sobre las prioridades correspondientes. En México se identificó el amarillamiento letal en enero de 1982 en palmas moribundas del este de la Península de Yucatán, en donde se había iniciado un año antes, tiempo en el cual se perdieron un 70% de las palmas de Cancún; también se presentó en Puerto Juárez en donde también destruyó gran cantidad de palmas y de ahí se ha esparcido hacia otros puntos del país.

Se ha calculado que esta enfermedad avanza a razón de 50 Km./año, lo que pone en peligro a las plantaciones de Campeche, Tabasco y Veracruz. Se considera que las plantaciones de Guerrero, Colima y Sinaloa corren menos riesgo debido a la distancia y es posible, además, que las palmas del Pacífico presenten cierto grado de resistencia. Para contrarrestar el problema socioeconómico que origina el avance del amarillamiento letal, se podría utilizar variedades de palmeras resistentes a esta enfermedad que proporcionen calidad y

rendimiento adecuados para ser explotados con la misma eficiencia que el coco comercial. Las palmas silvestres podrían ser una buena alternativa para la producción de aceite vegetal. Así, *Orbignya guacuyule* se podría utilizar para reforestar zonas afectadas ya que es resistente a la enfermedad, sin embargo requiere una gran inversión y tiempo para que las palmas den frutos.

### 3.5 ANALISIS PROXIMAL

Para caracterizar cualquier fruto primero es necesario determinar sus principales componentes: Humedad, grasa, proteínas, cenizas, fibra y carbohidratos, por medio de un análisis proximal; de esta forma podremos saber en que proporción se encuentran y si es factible aprovechar cada uno de estos componentes y así determinar si es conveniente explotar el fruto y aprovecharlo integralmente<sup>21</sup>.

**Humedad.-** Es el porcentaje de agua libre que se encuentra en los tejidos del fruto<sup>18</sup>, es decir, la que se libera con mayor facilidad. Esta determinación es importante para darle un valor real a los componentes de la muestra. El agua se encuentra en los alimentos en tres formas: Agua ligada que es la que esta unida en forma química, como es el agua de cristalización; agua adsorbida que está asociada físicamente como una monocapa sobre la superficie de los constituyentes de los alimentos y agua libre que es fundamentalmente un constituyente separado que se pierde fácilmente por evaporación<sup>18</sup>. Para determinar el contenido de humedad en los alimentos, existen varios métodos que varían en el grado de extracción que se lleva a cabo y se clasifican como: por secado, por destilación, métodos químicos y métodos instrumentales<sup>15</sup>. El más utilizado es por secado y se basa en la medición de pérdida de peso debida a la evaporación del agua a su temperatura de evaporación o cerca de ella; sin embargo, a esta temperatura también se pueden perder

aceites esenciales o sustancias volátiles por lo que el resultado puede no ser una medición verdadera. Esta determinación también se ve afectada por otros factores como son: el tamaño de partícula, la cantidad de muestra y las variaciones de temperatura en la estufa.

**Cenizas.-** Es una mezcla de elementos inorgánicos comunes, que incluyen todos los compuestos inorgánicos naturales como son: Calcio, fósforo, hierro, potasio, magnesio, manganeso, cobre, cobalto y zinc; el sodio presente normalmente proviene de cloruro de sodio y otros minerales presentes por contaminación. El método para determinarla se basa en la calcinación de toda la materia orgánica de la muestra a 550 °C y posteriormente se determina por diferencia de peso. Para la determinación de cloruros presentes se debe tener un buen control de la temperatura de incineración de la muestra ya que el calentamiento excesivo puede volatilizarlos.<sup>15, 53</sup>

**Proteína Cruda.-** Son macromoléculas que se forman por la polimerización de aminoácidos por medio de enlaces peptídicos, por lo que sus características físicas y químicas dependen de la secuencia, concentración y tipo de aminoácidos, ya que dos proteínas pueden estar formadas por los mismos aminoácidos y en la misma concentración, pero si su secuencia es diferente, sus propiedades van a ser muy distintas. Desde el punto de vista de nutricional las proteínas desempeñan un papel importante ya que aportan la energía (4 Kcal/g) y los aminoácidos necesarios para la síntesis de proteínas<sup>9</sup>.

El método más empleado para determinarla es el de Kjeldahl en el cual las proteínas y demás materia orgánica se oxidan con ácido sulfúrico. El nitrógeno que se encuentra en forma orgánica se fija como sulfato de amonio, que al reaccionar con una base fuerte desprende amoníaco; éste se destila y se titula con HCl de normalidad conocida. De esta forma se obtiene la cantidad de amoníaco desprendido y así el porcentaje de nitrógeno en la

muestra. La determinación de nitrógeno total es un reflejo preciso del contenido proteico total de la muestra, considerando que la cantidad de nitrógeno no proteico no es significativa<sup>19</sup>. La proporción de nitrógeno en la mayoría de las proteínas es de aproximadamente 16 % en peso, por lo que normalmente se utiliza un factor de conversión estándar de 6.25, que resulta del cociente 100/16; es decir, si de un alimento se extrajera solo la proteína y se determinara la cantidad de nitrógeno para esa proteína se obtendría en 100% de proteína pura el 16% de nitrógeno. Para convertir el contenido de nitrógeno en proteína por el método de kjeldhl se utiliza la siguiente formula<sup>53</sup>.

$$\% \text{ de Proteína Cruda} = \% \text{ de Nitrógeno} \times \text{Factor de conversión}$$

La composición de aminoácidos en diferentes alimentos varía, por lo que es necesario usar factores de conversión ligeramente diferentes al estándar, para tener una mayor precisión en la determinación. Las proteínas de los cereales tienen una proporción elevada de glutamina, por lo que su contenido de nitrógeno es más alto que el estándar y es necesario usar un factor de conversión más bajo, en este caso es de 5.70. La gelatina tiene un factor de conversión de 5.55, la carne de 6.25; para huevo y leche se aplican factores de conversión más altos, que son de 6.38 y 6.6 respectivamente. El AOAC (Association of Official Analytical Chemist), en el método oficial para proteínas en granos, indica que el factor que se debe usar en el cálculo es de 5.7 para trigo y sus derivados, 5.18 para almendras, 5.46 para nueces y 5.30 para coco<sup>53</sup>.

La mayoría de las semillas oleaginosas como soya, cacahuate, algodón, girasol, coco y otros, se cultivan especialmente como fuente de aceites comestibles, pero la mayoría de estas tienen, además del aceite, un alto contenido de proteína; la torta formada por el remanente sólido después de la extracción del aceite contiene del 20 al 50 % de proteína,

por lo que constituyen una de las principales fuentes de proteína; sin embargo actualmente estas tortas se usan exclusivamente para alimento animal.<sup>9</sup>

**Fibra.**- Es un grupo de polisacáridos estructurales que no se aprovechan metabólicamente por el cuerpo humano, está formada por compuestos estructurales como son: la celulosa, hemicelulosa y pectinas, también se incluye la lignina aún cuando no es un carbohidrato sino una cadena de compuestos fenólicos que contribuyen a la rigidez estructural de la planta; estos compuestos son exclusivos de los vegetales. Hay muchos alimentos que se elaboran con gomas como la de algarrobo, guar, arábigo y tragacanto; éstas también forman parte de la fibra, debido a que tampoco son aprovechadas por el organismo<sup>17</sup>.

Es importante el contenido de fibra ya que su ausencia se relaciona con varios problemas de salud como son: Constipación, diverticulosis, colitis, cáncer en el colon y recto, arteriosclerosis y otros. Se sabe que su función principal es su capacidad de hincharse al absorber agua, aumentando el volumen de la materia fecal lo que provoca un incremento en los movimientos peristálticos del intestino, facilitando así, el tránsito, la digestión intestinal y consecuentemente la defecación. Esta situación provoca un incremento en la viscosidad y reduce el tiempo de residencia de los constituyentes del alimento en el intestino y hace que solo las moléculas fácilmente absorbibles atraviesen la pared intestinal. Las sustancias irritantes, dañinas y tóxicas que generalmente tardan más tiempo para absorberse, no tienen oportunidad de hacerlo, por lo que se eliminan en las heces. Para un mejor aprovechamiento, la fibra debe ir acompañada de una ingestión adecuada de agua. No toda la fibra tiene las mismas propiedades, ya que algunas son hipoglucémicas, otras hiperglucémicas y otras más hipocolesterolémicas; sin embargo, una dieta muy abundante en fibra puede provocar problemas estomacales ya que al hidratarse provoca un

desequilibrio en el contenido de agua intestinal; además se une a elementos importantes como calcio, cinc, hierro, magnesio, fósforo y cobre, así como la vitamina B<sub>12</sub> y algunos aminoácidos provocando que no se aprovechen porque se eliminan en las heces<sup>2</sup>.

El método para determinarla se basa en que la fibra cruda se pierde al incinerar el residuo seco obtenido después de digerir la muestra seca y desengrasada con ácido sulfúrico al 1.25 % y con hidróxido de sodio 1.25 %.

$$\% \text{ Fibra Cruda} = \frac{\text{Residuo de la digestión seco} - \text{Residuo de la digestión calcinado}}{\text{peso de la muestra sin digerir}}$$

**Grasa Cruda:** Es la fracción que se obtiene por extracción continua con éter etílico u otros disolventes y está constituida por lípidos. Los lípidos son componentes insolubles en agua y solubles en disolventes orgánicos; dicha solubilidad depende de la polaridad del disolvente y la de los constituyentes de la grasa, son menos densos que el agua y a temperatura ambiente varían en consistencia, desde líquidos a los que se les denomina aceites, hasta sólidos a los que se les llama grasas.<sup>21</sup> Se determina por extracción continua en un aparato de Soxhlet con éter etílico o éter petróleo.

**Carbohidratos Totales:** Son compuestos con estructura de polihidroxialdehidos o polihidroxicetonas. Incluye todos los carbohidratos, sean o no asimilables. Los carbohidratos asimilables son aquellos que si son útiles nutricionalmente debido a que pueden ser digeridos, metabolizados y proporcionan parte de la energía al cuerpo humano.

Son la fuente más abundante y barata de energía en los alimentos de la naturaleza y por lo tanto los más consumidos<sup>9</sup>. Pueden ser monosacáridos como la glucosa o disacáridos como la sacarosa, ya sea que estén presentes de forma natural o adicionada; también se pueden encontrar como dextrinas formadas por degradación parcial de polisacáridos, o como

polisacáridos como es el caso del almidón y glucógeno.<sup>17</sup> Los carbohidratos no asimilables son los que el cuerpo humano no puede aprovechar como fuente de energía, como es el caso de la celulosa, hemicelulosa y gomas y se les considera como fibra.

El contenido de carbohidratos no fibrosos, como azúcares y almidón, se obtiene por diferencia de 100; es decir, a este valor se le restan la suman de los porcentajes de: humedad, cenizas, proteína cruda, grasa cruda y fibra cruda, determinadas experimentalmente. Se puede decir que esta diferencia representa los carbohidratos asimilables. Sin embargo, los errores experimentales cometidos en las determinaciones se ven reflejados en este cálculo, por lo que el porciento final de carbohidratos es aproximado.

### **3.6 MÉTODOS DE EXTRACCIÓN DE ACEITE.**

La extracción de aceite en las semillas oleaginosas se ha realizado tradicionalmente por tres métodos: Prensa hidráulica, extracción con disolventes y combinación de ambos métodos. Actualmente se ha desarrollado un nuevo método de extracción húmeda que se realiza por medio de enzimas<sup>6,11,14</sup>

**3.6.1 Extracción por Presión<sup>16</sup>.**- Fue el primer método industrial para la extracción de aceites hasta mediados del siglo XIX y actualmente sigue siendo uno de los métodos principales. Al someter los cuerpos sólidos o líquidos a una presión, sufren una disminución de volumen, oponiendo una resistencia igual a esta presión y si es posible ceden a ésta. Las gotas de aceite y los cristales de grasa que no quedaron libres por trituración previa, desgarran las paredes de la célula durante el prensado y se separan de la masa, pasando a través de los canales propios de la célula. La extracción se favorece si se lleva a cabo un calentamiento previo, ya que al elevar la temperatura se pueden coagular cuerpos albuminoides proteicos y precipita el mucílago, que está en las células vegetales

formándose una especie de emulsión con el aceite; este calentamiento también favorece la separación de otros materiales indeseables, lo que mejora la calidad del aceite. Sin embargo, un calentamiento excesivo incrementa el poder disolvente del aceite para ciertos elementos contenidos en la semilla, que dan olor, sabor, y color en algunos casos desagradables. Por tal razón, el aceite es más impuro cuando más se haya calentado el material prensado. Si se quiere tener una mejor calidad del aceite y un máximo rendimiento es necesario hacer un doble prensado, el primero en frío y el segundo en caliente y en ocasiones es recomendable un tercer prensado, así como también es recomendable regular el grado de humedad, ya que el agua atraviesa y ablanda el tejido celular, facilitando la deformación debida a la presión; sin embargo un exceso de agua podría provocar la expulsión de la materia a prensar y en prensas abiertas acarrearía la rasgadura de los paños y en prensas cerradas, la obstrucción de los mismos.

La prensa, por sí misma, no causa alteraciones en el aceite, siempre y cuando se limpie adecuadamente para evitar la contaminación. También es importante elegir el sistema de prensado adecuado para obtener un buen rendimiento y la calidad deseada. Actualmente las prensas más utilizadas para la producción de aceite en gran escala son las prensas hidráulicas y para pequeñas producciones, las de tipo palanca, cuña, husillo y ballestas articuladas. Sin embargo, mediante el prensado no es posible extraer todo el aceite contenido en la semilla ya que las tortas prensadas contienen todavía del 4-12 % de aceite lo que representa una pérdida del 10 al 25 % del aceite total contenido al principio.

**3.6.2 Extracción con disolventes<sup>55</sup>.**- Los métodos continuos de extracción generalmente requieren prensar primero la semilla para romperla y facilitar la extracción con el disolvente; la combinación de ambos métodos da como resultado un buen rendimiento de

aceite, quedando en los residuos del 0.5 al 2 % de aceite. Actualmente la extracción con disolventes se lleva a cabo por percolación de las semillas troceadas. La extracción se hace por lotes en una secuencia de pasos en diferentes extractores. Recientemente se ha desarrollado una operación continua que involucra dos principios que son: el proceso de inmersión en el cual se sumerge la semilla en el disolvente y el proceso de percolación, pasando lentamente el disolvente a través de la semilla. Como la extracción es un proceso basado en un equilibrio de distribución, se lleva a cabo a contracorriente, en donde el disolvente fresco entra en contacto con las semillas más extraídas y las semillas frescas se sumergen en el disolvente ya impregnado con aceite. Los aceites obtenidos por disolventes contienen menos materias mucilaginosas y albuminoideas, además, con el empleo de disolventes puros es posible eliminarlos totalmente del aceite extraído, sin embargo, para eliminar el disolvente es indispensable el empleo de calor, lo que causa alteraciones en el aceite y disminuye su calidad, sobre todo si es para fines alimenticios, de tal manera que siempre será de mejor calidad un aceite extraído en frío<sup>16</sup>.

Las características que debe tener el disolvente para la extracción de aceites son: no ser tóxico, removerse fácilmente, ser inmiscible en agua, ser un disolvente poderoso para los aceites, tener bajo precio y no ser flamable ni explosivo. Es difícil que un disolvente reúna estas características, sin embargo el hexano es el que más se acerca y por lo tanto es el disolvente más empleado<sup>55</sup>.

**3.6.3 Método Enzimático:** Este método se desarrolló para la extracción de aceite de coco y aguacate. Se basa en que el aceite se encuentra generalmente dentro de las células vegetativas y unido a otras macromoléculas, por lo tanto, después de una hidrólisis parcial, de éstas, se puede conseguir la extracción del aceite. Dado que esas macromoléculas

pueden incluir proteínas y una amplia variedad de carbohidratos (almidón, celulosa, hemicelulosa, pectinas etc.), el tratamiento enzimático se puede llevar a cabo por medio de una mezcla enzimática adecuada.<sup>14</sup> Lo importante de este método es que se elimina completamente el uso de disolventes orgánicos.

Este método surgió<sup>6,11</sup> al observar que la mezcla obtenida de la fermentación láctica de la pulpa de coco en medio acuoso no era estable debido a que se formaban dos fases; después de observar que este efecto no se modificaba con los cambios de pH, ácido láctico o enzimas endógenas, se llegó a la conclusión que desde antes de la formación de las dos fases, el aceite que usualmente se encuentra en el interior de las células vegetativas, se separa de otras macromoléculas por una hidrólisis parcial; estas macromoléculas pueden ser principalmente proteínas y gran variedad de carbohidratos. Con esta técnica se pretende modificar el tejido celular con enzimas hidrolíticas para extraer o liberar el aceite; así se han desarrollado algunos productos enzimáticos como aditivos para incrementar el rendimiento de la extracción de aceite en algunos procesos mecánicos clásicos, con los cuales, al modificar el tejido celular, la cantidad de aceite retenido en el residuo después de la extracción disminuye considerablemente.

### **3.7 GRASAS Y ACEITES VEGETALES**

Las grasas y aceites son los lípidos más abundantes en la naturaleza y están constituidos por triglicéridos que son ésteres del glicerol con ácidos grasos de alto peso molecular; estos pueden ser saturados, mono-insaturados o poli-insaturados. Los lípidos tienen tres funciones importantes en los alimentos: Fisiológica, nutricional y culinaria.<sup>52</sup> Su importancia desde el punto de vista fisiológico se debe a que representan la energía química más compacta porque aportan 9 Kcal/g, que es mayor a la de los carbohidratos y proteínas

(4 Kcal/g). Nutricionalmente son fuente de ácidos grasos esenciales como son: Acido linoleico, linolénico y araquidónico. El ácido linoleico tiene propiedades funcionales y estructurales, ya que es constituyente de los fosfolípidos que forman las membranas celulares y por lo tanto es posible que tengan un papel importante en regular la permeabilidad de las células y el transporte de lípidos en la circulación, además es vehículo de vitaminas liposolubles. En lo que se refiere al aspecto culinario los lípidos también son vehículo de olores y sabores en la elaboración de alimentos y contribuyen a su palatibilidad; algunas veces imparten suavidad y textura en algunos alimentos, por ejemplo en los productos de panificación y en helados.<sup>52</sup>

**3.7.1 Composición Química de las Grasas.-** El término lípidos incluye a varias sustancias químicas, ya que además de triglicéridos, también incluye mono-glicéridos, diglicéridos, fosfátidos, cerebrósidos, esteroides, terpenos, alcoholes grasos, ácidos grasos, vitaminas liposolubles y otras sustancias.<sup>60</sup>

**Triglicéridos.-** Representan normalmente más del 95 % en peso de las grasas y aceites en los alimentos y están constituidos por ésteres de glicerol y ácidos grasos. Cuando todos los ácidos grasos que esterifican al glicerol son idénticos, se les denomina triglicéridos “simples”; sin embargo los glicéridos más comunes son los “compuestos” es decir, cuando dos o los tres ácidos grasos que esterifican al glicerol son diferentes; este tipo de triglicéridos constituyen aproximadamente el 98 % de las grasas de los alimentos y más del 90 % de las grasas de todo el cuerpo humano.

Las propiedades físicas y químicas de las grasas dependen de la proporción y tipo de ácidos grasos que la constituyen además de la forma en que se distribuyen en el glicerol. Los ácidos grasos que predominan son los de cadenas alifáticas saturadas y en menor

proporción los ácidos grasos insaturados; también se incluyen pequeñas cantidades de ácidos grasos de cadena ramificada, cíclica o con un número impar de carbonos.

**Ácidos Grasos Saturados.**- Estos ácidos solo contienen enlaces carbono-carbono simples y son menos reactivos químicamente. Su punto de fusión aumenta con la longitud de la cadena, de tal manera que a partir del ácido caprílico (C8), son sólidos a temperatura ambiente. En la tabla 3.7.1 se muestran los ácidos grasos saturados, de interés práctico, todos excepto el ácido acético se encuentran en grasas naturales.

**Ácidos Grasos Insaturados.**- Son ácidos grasos que contienen uno o más enlaces dobles carbono-carbono. Cuando un ácido solo tiene un doble enlace se le llama monoinsaturado y si contiene más de uno se le llama poliinsaturado. Las reacciones de oxidación y polimerización, se favorecen cuando los ácidos grasos tienen dobles enlaces conjugados.<sup>60</sup> En la tabla 3.7.2 corresponde a los ácidos grasos insaturados encontrados en grasas comestibles y los alimentos que son fuente de estos.

**Ácidos Grasos Poliinsaturados.**- Son ácidos que tienen más de un doble enlace. Los más importantes son: ácido linoleico, linolénico, araquidónico, eicosapentaenoico y docosahexaenoico que contienen 2,3,4,5 y 6 dobles enlaces respectivamente. Los aceites y grasas vegetales son la principal fuente de ácidos linoleico y linolénico. El araquidónico se encuentra en pequeñas cantidades en manteca de cerdo. El aceite de pescado también contiene ácidos grasos de cadena larga con tres o más dobles ligaduras, como el ácido eicosapentaenoico y docosahexaenoico. Los ácidos linolénico y linolénico se denominan esenciales porque no pueden sintetizarse en el organismo y deben ser suministrados por la dieta. Sin embargo, el ácido araquidónico puede sintetizarse a partir del ácido linolénico y se considera esencial porque es un constituyente vital de las membranas y es precursor de

un grupo de compuestos similares a hormonas denominados prostaglandinas, tromboxanos y protaciclina, que son importantes en la regulación de varios procesos fisiológicos.<sup>60</sup> El ácido linoléico es también precursor de un grupo especial de prostaglandinas.

**Tabla 3.7.1 Ácidos Grasos Saturados**

Nombre Sistemático	Nombre Común	No de átomos de Carbono	Punto de Fusión (°C)	Origen típico
Etanoico	Acético	2	--	---
Butanoico	Butírico	4	-7.9	Mantequilla
Hexanoico	Caproico	6	-3.4	Mantequilla
Octanoico	Caprílico	8	16.7	Aceite de coco
Decanoico	Cáprico	10	31.6	Aceite de coco
Dodecanoico	Láurico	12	44.2	Aceite de coco
Tetradecanoico	Mirístico	14	54.4	Manteq. Ac. Coco
Hexadecanoico	Palmitico	16	62.9	Mayoría de grasas
Octadecanoico	Estearico	18	69.6	Mayoría de grasas
Eicosanoico	Araquídico	20	75.4	Aceite de cacahuete
Docosanoico	Behénico	22	80.0	Aceite de cacahuete

**Tabla 3.7.2 Ácidos Grasos Insaturados y Poliinsaturados de Grasas y Aceites**

Nombre Sistemático	Nombre Común	dobles enlaces	No de átomos de Carbono	Punto de Fusión (°C)	Origen típico
9-decenoico	Caproleico	1	10	----	Mantequilla
9-dodecenoico	Lauroleico	1	12	----	Mantequilla
9-tetradecenoico	Miristoleico	1	14	18.5	Mantequilla
9-hexadecenoico	Palmitoleico	1	16	----	Pescado, vacuno
9-octadecenoico	Oleico	1	18	16.3	Mayoría de grasas y aceites.
9-octadecenoico	Eláidico	1	18	43.7	Mantequilla
11-octadecenoico	Vaccénico	1	18	44	Mantequilla
9,12-octadecadienoico	Linoleico	2	18	-6.5	Mayoría de grasas y aceites.
9,12,15-octadecatrienoico	Linolénico	3	18	-12.8	Soya y Canola
9-eicosenoico	Gadoléico	1	20	----	Manteca Cerdo
5,8,11,14-eicosatetraenoico	Araquidónico	4	20	-49.5	Algunos aceites de pescado
5,8,11,14,17-eicosapentaenoico	-----	5	20	----	Algunos aceites de pescado
13-docosenoico	Erúcico	1	22	33.4	Canola
4,7,10,13,16,19-docosahexaenoico	-----	6	22	----	Algunos aceites de pescado

Todos los enlaces están en configuración cis excepto en los ácidos eláidico y vaccénico que son trans.

### 3.7.2 Componentes Minoritarios de las Grasas

**Monoglicéridos y diglicéridos.**- Son mono- y di-ésteres de ácido graso y glicerol, ambos son agentes emulsificantes que se encuentran en pequeñas cantidades tanto en aceites vegetales como en grasas animales. Se preparan comercialmente haciendo reaccionar glicerol con triglicéridos o esterificando glicerol con ácidos grasos. De manera natural, se forman en el tracto intestinal normalmente como resultado de la digestión de triglicéridos.<sup>60</sup>

**Ácidos Grasos Libres.**- Son los ácidos grasos no esterificados presentes en una grasa, algunos aceites no refinados tienen altas cantidades de estos ácidos y su contenido disminuye durante el refinado.

**Fosfátidos.**- Son polialcoholes, generalmente glicerol, esterificado con ácidos grasos, ácido fosfórico y un compuesto nitrogenado. Los fosfátidos más comunes de las grasas comestibles son la lecitina y la cefalina; en la lecitina la base nitrogenada es la colina y en la cefalina es la hidroxietilamina. Estos componentes se eliminan durante el refinado.

**Esteroles.**- Son sustancias que contienen un núcleo común esteroideo (4 anillos condensados), una cadena de 8 a 10 átomos de carbono y un grupo hidroxilo en posición C3, también se les llama alcoholes esteroideos. Se encuentran tanto en aceites vegetales como animales, el colesterol es el esteroide mayoritario en las grasas animales pero también se encuentra en aceites vegetales aunque en cantidades traza. Los esteroides de los aceites vegetales se llaman "fitoesteroides", los más conocidos son el sitosterol y el stigmasterol; su cantidad varía de acuerdo al origen del aceite.<sup>9</sup>

En una publicación reciente,<sup>57</sup> menciona que son los productos de oxidación de los ésteres del colesterol los que causan la arterosclerosis y no el colesterol como tal, ya que éste es relativamente inerte a oxidarse, en comparación con algunos ésteres como el oleato de

colesterol. En contraste, los ésteres de ácidos poliinsaturados de colesterol son altamente peroxidables y son la primera causa de obstrucción de venas. Los ésteres poliinsaturados forman fácilmente radicales peróxido, capaces de convertir al colesterol a productos de oxidación como son epóxidos, cétonas y alcoholes, siendo estos más dañinos que el colesterol.

**Alcoholes Grasos.**- Son alcoholes de cadena larga y tienen poca importancia en la mayoría de las grasas comestibles. En ceras y algunos aceites vegetales hay una pequeña cantidad de alcoholes grasos esterificados con ácidos grasos. Se encuentran en mayor proporción en algunos aceites de origen marino.

**Tocoferoles.**- Es un grupo de compuestos que contienen un anillo aromático sustituido y una cadena lateral hidrocarbonada larga. Forman parte de los componentes minoritarios importantes en la mayoría de las grasas de origen vegetal, sirven como agentes antioxidantes que retardan el enranciamiento y también son fuente de vitamina E. El alfa-tocoferol tiene la actividad vitamina E más elevada y la menor actividad antioxidante; la capacidad antioxidante de otros tocoferoles en orden decreciente son: el delta-, beta- y alfa-tocoferol. Del 60 al 70 % de los tocóferoles existentes en los aceites de semillas resisten el proceso de refinado y permanecen en las grasas comestibles. Sin embargo, se pueden adicionar éstos u otros antioxidantes después del refinado para mejorar la estabilidad.<sup>9,60</sup>

**Carotenoides y Clorofilas.**- Son sustancias coloridas naturales presentes en grasas y aceites, su color varía de amarillo a rojo intenso. La clorofila es un pigmento verde que se encuentra en las plantas y desempeña un papel esencial en la fotosíntesis. A veces la cantidad natural de clorofila presente en el aceite es suficiente para darle una coloración

verdosa. La cantidad de compuestos coloridos en la mayoría de los casos se reduce durante el refinado para dar a los aceites un color, aroma y estabilidad aceptables.

**Vitaminas.**- Las vitaminas liposolubles son la A y D y a veces se adicionan a los alimentos que contienen grasa, como la margarina o la leche. Pero la mayoría de las grasas y aceites vegetales no son fuentes de vitaminas A y D.

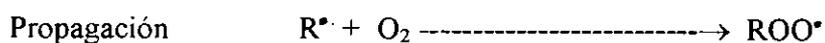
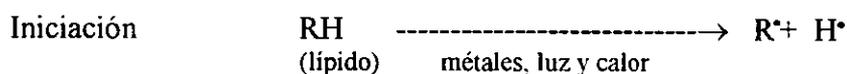
### **3.7. 3 Reacciones Químicas de los Aceites y Grasas**

**Hidrólisis de las grasas.**- Los triglicéridos se hidrolizan fácilmente al calentar la grasa en medio alcalino con una dilución de sosa produciendo glicerol y sales sódicas (jabones). Si se lleva a cabo una hidrólisis parcial se produce ácidos grasos, mono- y di-glicéridos. La hidrólisis en presencia de un catalizador ácido, forma glicerol y ácidos grasos libres, si estos son de cadena corta, pueden impartir aromas rancios y algunos también tienen sabores desagradables como el ácido láurico que da un sabor jabonoso. Sin embargo la mayoría de los alimentos tienen pH neutro o ligeramente ácido por lo que este tipo de hidrólisis es relativamente poco frecuente, siendo más común la hidrólisis enzimática.<sup>22</sup>

**Hidrólisis Enzimática (Lipólisis).**- Es la hidrólisis parcial o total de los enlaces éster de los lípidos que se produce por enzimas. Algunas de éstas tienen selectividad a la posición de los enlaces éster, por ejemplo la lipasa pancreática tiene “preferencia” por los ácidos grasos de cadena corta y las posiciones 1,3 de la molécula del glicerol. Se favorece con la presencia de enzimas, temperaturas elevadas y alto contenido de humedad. En este tipo de hidrólisis también se forman mono- y diglicéridos, además del glicerol libre. Algunas lipasas continúan reaccionando lentamente a actividades bajas de agua, ya que actúan inclusive en alimentos deshidratados. Las lipasas pueden ser constituyentes naturales de los alimentos o pueden ser aportadas como exoenzimas por hongos que se desarrollan en estos.

Los ácidos grasos libres se producen a veces en los aceites vegetales durante su recolección y extracción, y en el proceso de refinado se eliminan en forma de jabones, ya que un nivel elevado de ácidos grasos libres reduce el valor comercial del aceite y los métodos modernos de recolección y extracción se diseñan para reducir este valor al mínimo; dado que las enzimas lipolíticas presentes en algunas grasas y aceites se desnaturalizan a las temperaturas empleadas durante el refinado, la hidrólisis enzimática es poco probable en el producto final.<sup>17</sup>

**Oxidación de grasas.-** Es la oxidación espontánea de las grasas cuando éstas se exponen al aire a temperatura ambiente. Las reacciones que se producen se denominan colectivamente de autooxidación. Estas reacciones comienzan cuando el oxígeno reacciona con los ácidos grasos insaturados de la grasa; estas reacciones son catalizadas por metales pesados principalmente fierro y cobre y también por luz o calor. Los productos de la reacción son radicales libres R• y H•. La mayor parte de estos forman rápidamente moléculas de RR y RH, etc. En presencia de oxígeno, los radicales libres ( R•), forman un radical peróxido ROO• el cual reacciona con una nueva molécula de la grasa dando lugar a un nuevo radical a través del cual se propaga la cadena. Los hidroperóxidos formados son relativamente inestable y se descomponen y degradan para formar aldehidos, cetonas, hidrocarburo y en menor cantidad epóxidos y alcoholes que son más estables. Estos productos formados por la oxidación son los responsables del desarrollo de sabores y aromas desagradables, característicos de esta oxidación conocida como enranciamiento oxidativo.<sup>17</sup>



Descomposición  $\text{ROOH} \longrightarrow \text{RO}^\bullet + \text{OH}^\bullet$  (también  $\text{R}^\bullet$ ,  $\text{ROO}^\bullet$ , etc.)

Terminación  $\text{ROO}^\bullet + \text{X} \longrightarrow$  Compuestos estables (ácidos, alcoholes, ésteres, aldehídos, cetonas, lactonas aromáticas, hidrocarburos

Generalmente las grasas expuestas al aire reaccionan muy lentamente con el oxígeno en sus primeras etapas; sin embargo, el final del periodo de inducción es seguido por una reacción autocatalizada que ocurre rápidamente. Por lo tanto, mientras más insaturada sea la grasa mayor será su sensibilidad al enranciamiento oxidativo. Aceites muy insaturados como el de algodón, soya o maíz, son menos estables que los aceites saturados como el de coco; sin embargo se puede incrementar su estabilidad evitando que el aceite esté en contacto con el aire o adicionando antioxidantes, que reaccionan con radicales libres, fijándolos a medida que se forman, impidiendo así la secuencia de reacciones. Los tocoferoles naturales actúan por este mecanismo, así como algunos fenoles sintéticos como el butilhidroxianisol (BHA) y butilhidroxitolueno (BHT). Una manera de incrementar la estabilidad de los aceites, es saturar parcialmente las insaturaciones, por hidrogenación.<sup>22</sup>

**Reacciones de Polimerización.-** Todas las grasas, y principalmente las que son ricas en ácidos grasos poliinsaturados, tienden a formar moléculas más grandes conocidas como polímeros (resinas), que son viscosos, gomosos o aún sólidos. Esto es una de las consecuencias de la autoxidación de los lípidos cuando se calientan en condiciones extremas de temperatura y por periodos de tiempo largos. Estas reacciones pueden ocurrir a través de la combinación directa de los radicales libres o por otras reacciones. Cuando la cantidad de polímeros es considerable se incrementa la viscosidad del aceite.<sup>9,60</sup>

### 3.8 ANALISIS DE GRASAS Y ACEITES

Los métodos de análisis para grasas comestibles y no comestibles se clasifican en cinco grupos.

El primero comprende procedimientos no oficiales usados para identificar a las grasas y aceites con respecto a su fuente y origen particularmente, ya que pueden ser de origen animal o vegetal y a veces es necesario determinar la fuente específica.

El segundo grupo, que es más amplio, comprende importantes métodos oficiales de la American Oil Chemist's Society (AOCS), The American Society for Testing Materials (ASTM), La Association of Official Analytical Chemists (AOAC) y otras organizaciones. Se usan habitualmente para análisis de rutina en aceites y grasas, ácidos grasos terminados y otros derivados para su venta o compra y ocasionalmente para control de proceso y de estabilidad.

El tercer grupo de métodos analíticos, que actualmente se ha incrementado de manera importante con el desarrollo de equipo sofisticado es el más empleado, se desarrolló específicamente para monitorear y controlar los niveles de compuestos inaceptables que pudieran estar presentes en grasas y aceites. Estos compuestos pueden ser productos de su degradación, contaminación inadvertida por el ambiente o por contaminación durante su procesamiento, como son: la extracción con disolventes y metales del equipo en el refinado.

El cuarto grupo de métodos analíticos se diseñó para la determinación cualitativa y cuantitativa de cantidades relativamente pequeñas de compuestos no tóxicos que tienen algún efecto benéfico o desventajoso en la calidad y estabilidad de los aceites y grasas. Algunos ejemplos típicos son la determinación de  $\beta$ -tocoferol en aceite de germen de trigo y la identificación de antioxidantes sintéticos y vitamina A en mantequilla.

El quinto grupo comprende técnicas sofisticadas de análisis instrumental para determinar pequeñas cantidades de compuestos que ordinariamente tienen poco o ningún efecto sobre la calidad o estabilidad de producto terminado. Además de algún interés académico o científico, la información obtenida de dichos análisis es de poco interés para propósitos de control de calidad. Los procedimientos más representativos son: la determinación de esteroides, alcoholes triterpenos, aceites insaponificables y otros en grasas y aceites.<sup>3</sup>

Los métodos basados en las propiedades físicas de aceites y grasas, son importantes para su identificación y caracterización y de esta manera se puede determinar su uso y aplicaciones. Para analizar una muestra es necesario saber su origen y si se trata de una grasa cruda o refinada, así como hacer pruebas de identidad, calidad y de presencia de compuestos tóxicos.

### **3.8.1 Características de Identidad**

**Densidad (Gravedad específica).**- Es la relación entre la masa del aceite y una masa de igual volumen de agua a una temperatura determinada. Su valor aumenta con las insaturaciones de los ácidos grasos constituyentes y es inversamente proporcional al peso molecular de las grasas.<sup>58</sup> La densidad sirve como criterio de identidad de las grasas, además de ser útil en el diseño del equipo para la refinación de estos productos. Generalmente se determina con picnómetro, el método consiste en determinar la masa de volúmenes iguales de agua y de aceite para calcular la relación entre ambos valores, bajo condiciones específicas de temperatura, generalmente a 20 °C. Cuando la grasa no es líquida a esta temperatura la determinación se hace a 40 ó 60 °C. La densidad se reporta a 20 °C, si se ha determinado a una temperatura diferente se suma ó resta el factor 0.00064 por cada grado sobre ó abajo de 20 °C respectivamente.<sup>51</sup>

**Índice de Refracción**<sup>51</sup>: En una sustancia dada, es la relación de la velocidad de transmisión de un rayo de luz en el vacío y la velocidad de la luz a través de la sustancia en cuestión. El índice de refracción de una grasa o aceite aumenta con el incremento en el número de insaturaciones de los ácidos grasos que la constituyen.<sup>58</sup> Debido a que el valor del índice de refracción tiene relación con el número de cadenas insaturadas presentes, se puede correlacionar con el índice de yodo<sup>52</sup>. Su determinación tiene gran utilidad en el control de los procesos de hidrogenación. Se determina a 25° C para aceites y a 50°C para grasas en el refractómetro de Abbe, iluminado por lámpara de sodio, manteniendo la temperatura constante con circulación de agua a la temperatura deseada a través de la chaqueta que protege a los prismas, no debe haber disolvente en la muestra ya que esto da resultados erróneos. El valor obtenido se puede corregir a cualquier temperatura con la siguiente fórmula:

$$IR = IR^* + K (T^* - T)$$

En donde:  $IR^*$  = Índice de refracción obtenido,  $T$  = temperatura deseada,  $T^*$  temperatura deseada y  $K = 0.000385$  para aceites

**Punto de Fusión.**- Es el intervalo de temperatura en la cual la muestra pasa de el estado sólido al líquido, es decir hasta que la muestra llega a ser perfectamente clara y líquida al calentarse en baño de agua a una velocidad aproximada de 5°C/ min. Las grasas y aceites pueden solidificar en varias formas de cristalización que funden a diferentes temperaturas, es decir, no tienen punto de fusión definido, ya que se trata de mezclas de triglicéridos, además de que están presentes otros compuestos y muestran distintos grados de insaturación. El punto de fusión es muy importante para la identificación de la muestra y

para calificar su calidad ya que mientras mayor sea el intervalo de temperatura de fusión es más impuro. El método más usado para determinarlo es por tubo capilar.<sup>51</sup>

**Índice de Yodo:** Es la cantidad en gramos de yodo fijado por 100 g de muestra. Esta determinación es importante para la clasificación de las grasas y aceites y en el control del proceso.<sup>52</sup> El parámetro es generalmente aceptado para expresar el grado de insaturación carbono-carbono de las grasas y permite la clasificación de los aceites en secantes con valores menores de 100, no secantes de 130 a 200 y semisecantes que tienen valores intermedios. Se determina por el método de Wijs o por el método de Hanus; los dos consisten en añadir a la muestra un exceso de yodo y después se determina la cantidad de yodo que no reaccionó por medio de una titulación con tiosulfato de sodio.<sup>58</sup> El método más utilizado es el de Wijs ya que se acerca más a los valores teóricos que cualquier otro método. Por el método de Hanus se obtienen valores de 2 a 5 % menores que por el de Wijs; no obstante que, el reactivo de Hanus es más estable, el método estandar es el de Wijs, por lo que es este el método usado, ya que con el se obtienen valores reproducibles y se pueden hacer comparaciones con valores ya establecidos.<sup>52</sup>

**Índice de saponificación:** Es el número de mg de hidróxido de potasio necesarios para saponificar 1 g de aceite. El valor obtenido es inversamente proporcional al peso molecular promedio de los ácidos grasos.<sup>58</sup> El método para determinarlo se basa en la hidrólisis, con catálisis básica, de los ésteres de ácidos grasos para formar la sal de dichos ácidos grasos; el hidróxido de sodio remanente se titula con ácido clorhídrico.

El índice de éster es la diferencia entre el índice de saponificación y el índice de acidez y es una medida de la cantidad de triglicéridos presentes.<sup>52</sup>

**Índice de Reicher-Meissl-** Expresa los mililitros de álcali 0.1N necesarios para neutralizar los ácidos grasos solubles en agua, volátiles en vapor, provenientes de 5g de aceite. Este valor se relaciona con la presencia de ácidos grasos de cadena corta, principalmente butírico y capríco. El proceso no determina la cantidad total de los ácidos volátiles en vapor presentes en la muestra, por lo que este valor es simplemente empírico, pero apegándose estrictamente a las dimensiones de los aparatos usados y a los detalles del procedimiento, la información se puede usar para determinar presencia o ausencia de estos ácidos en la grasa. Esta determinación se aplica en mantequilla, aceite de coco, palma y semilla de palma. La grasa de lecha de vaca y otras grasa de leche son las únicas que tiene ácido butírico en sus glicéridos y debido a que este ácido es soluble en agua, se obtienen valores de Reichert elevados. Para determinarla primero se hace la saponificación de 5 g de muestra, se adiciona agua, se acidifica y se destila 110 ml en aproximadamente 30 min., se filtra y se titulan con hidróxido de sodio 0.1N para neutralizar los ácidos grasos solubles en agua presentes en la mezcla.<sup>34</sup>

**Índice de Polenske** Expresa los mililitros de álcali 0.1N necesarios para neutralizar los ácidos grasos volátiles en vapor, insolubles en agua, provenientes de 5g gramos de aceite. Se refiere específicamente a los ácidos caprilico, cáprico y laúrico. Su determinación, igual que la de Reichert, se puede considerar empírica, ya que es la continuación de ésta. Los aceites de coco y semilla de coco, aunque son algo diferentes, contienen ácidos grasos volátiles en vapor solubles en agua y también los insolubles en agua, por lo que dan valores significativos de Reichert y Polenske pero no contienen ácido butírico.<sup>34</sup>

**Materia Insaponificable.-** Es el peso en gramos de substancia no saponificable con hidróxido de potasio, que es insoluble en agua y soluble en éter de petróleo,

correspondientes a 100 g de grasa. Entre la materia insaponificable se encuentran esteroides, alcoholes de cadena larga y triterpenos, algunos hidrocarburos como escualeno, pigmentos y materiales traza. Para determinarla primero se saponifica completamente la muestra con hidróxido de potasio y después se hace una serie de extracciones con éter de petróleo, después se evapora el éter del extracto y los residuos se disuelven con alcohol. Los ácidos grasos contenidos en el residuo se titulan con hidróxido de sodio, valor que se resta al peso del residuo.<sup>3,52</sup>

$$\text{Materia Insaponificable (\%)} = \frac{\text{Peso de residuo (g)} - \text{ácidos grasos en el extracto(g)}}{\text{Peso de la muestra en gramos}} \times 100$$

**Prueba Fría-** Es el tiempo que requiere el aceite para formar cristales a 0°C y es una indicación empírica del primer estado de cristalización, que se aplica a todas las grasas animales y vegetales normales. En esta determinación se mide el tiempo necesario para provocar el enturbiamiento de 30 g de aceite, contenido en un recipiente sumergido en baño de hielo a 0 °C. Un valor mínimo aceptable para un aceite destinado a ensaladas es de 5.5 h; por el contrario, un aceite destinado a la preparación de mayonesas debe superar este tiempo, ya que la cristalización podría romper la emulsión cuando se almacenara en un refrigerador.<sup>18</sup>

### **3.8.2 Características de Calidad.**

**Color.-** El color que presentan algunas grasas y aceites se debe generalmente a la presencia de pigmentos vegetales originales como β-caroteno, clorofila, luteína, licopeno y otros. El color en aceites y grasas es un indicador inicial de su calidad, ya que algunos aceites vegetales crudos tienen color muy intenso. Sin embargo, la presencia de color no es criterio de rechazo, ya que en muchos casos éste es característico del aceite, como en el caso de

aceite de oliva que es ligeramente verde; la grasa de leche es amarilla y los aceites de maíz, algodón, girasol y soya son amarillo oro. Se han desarrollado varios métodos para determinar el color en aceites, los más empleado son: por colorímetro de Lovibond, espectroscopía y visualmente.<sup>3,52</sup>

**Rancidez en Grasas y Aceites.**- La rancidez es el término que se usa para describir sabores y olores desagradables y que tiene como consecuencia una baja aceptación de los alimentos. La rancidez es causada por cambios hidrolíticos u oxidativos en las grasas; es decir, puede tratarse de rancidez hidrolítica o rancidez oxidativa. La rancidez hidrolítica se produce por la hidrólisis de los enlaces éster, que puede ser provocada por enzimas (lipasas) o químicamente, dando como resultado ácidos grasos libres. Los ácidos grasos libres que contienen insaturaciones son susceptibles de posteriores oxidaciones (rancidez oxidativa). En los productos lácteos y productos con aceite de coco, que contienen glicéridos con ácidos grasos de bajo peso molecular, tales como butírico, caproico, caprílico o cáprico, es especialmente perjudicial la hidrólisis, ya que al llevarse a cabo, estos ácidos grasos producen un alto grado de rancidez. Se han desarrollado varios métodos para determinar el grado de rancidez, pero ninguno en particular se puede aplicar a todas las etapas y productos de oxidación, por lo se emplea una combinación de pruebas.

**Índice de Acidez:** Es el número de miligramos de hidróxido de potasio necesarios para neutralizar los ácidos grasos libres de un gramo de muestra. El contenido de ácidos grasos libres también se expresa como porcentaje en peso del ácido graso más abundante. Para el caso de aceite de Orbignya es el ácido laurico. El índice de acidez se puede convertir a ácidos grasos libres (AGL), por medio de la siguiente fórmula.

$$\text{Índice de Acidez} = 1.99 \times \% \text{ AGL}$$

$$\% \text{ AGL} = 0.503 \times \text{Índice de acidez}$$

El índice de acidez está relacionado con la calidad de los aceites. Generalmente los recientemente procesados son prácticamente neutros, pero a medida que envejecen se liberan ácidos grasos, incrementando la acidez. Esta liberación se ve favorecida por la presencia de humedad y calor. La determinación consiste en disolver la muestra en alcohol neutralizado y posteriormente titular con hidróxido de sodio o potasio, utilizando fenolftaleína como indicador.

**Índice de Peróxidos.-** Son los miliequivalentes de oxígeno activo en forma de peróxido presente por kilogramo de aceite y se expresa en ppm. Los peróxidos son los productos iniciales en la autooxidación de grasas, pero debido a que están sujetos a reacciones posteriores de degradación, este valor está limitado solo a las primeras etapas de oxidación. El índice de peróxido es una medida del grado de oxidación, pero no de estabilidad en las grasas.<sup>51,52,60</sup> Es la prueba más utilizada para medir la oxidación de las grasas. La determinación se hace midiendo la cantidad de yodo liberado de una solución de yoduro de potasio por la grasa o el aceite, disuelto en una mezcla de ácido acético-cloroformo; el yodo liberado se titula con tiosulfato de potasio.<sup>51,52,60</sup>

**Prueba de Kreis-** Es una prueba cualitativa, altamente empírica y no específica para determinar el grado de descomposición común de las grasas, es decir la rancidez. Esta prueba supuestamente depende de la presencia de epihidrinaldehído, un producto de la descomposición que da una coloración rosa, cuya intensidad se puede considerar proporcional al grado de rancidez de las grasas y aceites.<sup>3</sup>

### 3.8.3 Contaminantes en Aceites y Grasas

**Impurezas Insolubles-** Se entiende por impurezas insolubles de una grasa al conjunto de sustancias sólidas presentes. Los aceites y grasas deben estar libres de materia extraña ya

que ésta afecta a la pureza de la muestra y es un criterio importante para determinar su calidad. Esta determinación se basa en una observación visual; también se puede hacerse por gravimetría. Las impurezas más comunes son: huesos, espinas, tierra, harina, y otras sustancia insoluble en keroseno y éter.<sup>3,52</sup>

**Humedad y Materia Volátil.-** Por humedad y materia volátil se entiende la pérdida en masa del aceite bajo condiciones particulares. Se determina aumentando gradualmente la temperatura hasta 130 °C y se obtiene el valor por la diferencia de peso. El contenido de humedad es importante en aceites y grasas porque influye en su estabilidad y la presencia de compuestos volátiles, generalmente disolventes, debe evitarse ya que son tóxicos y se deben a que no se eliminan completamente durante la extracción.<sup>3,52</sup>

**Contenido de jabón:** Se refiere a las sales de ácidos grasos presentes en la muestra. Esta prueba se aplica en aceites y grasas y la norma del Codex establece que el contenido de jabón no debe ser mayor de 0.005%. La determinación se hace neutralizando el jabón que pudiera estar presente en 40 g de aceite con ácido clorhídrico, utilizando azul de bromofenol como indicador y el valor se expresa en jabón disuelto, como oleato de sodio.<sup>10</sup>

$$\% \text{ de jabón disuelto (Oleato de sodio)} = \frac{0.304 \times \text{volumen de ácido } 0.01\text{N utilizados (g)}}{\text{Masa de la muestra empleada (g)}}$$

En donde 0.304 son los los miliequivalentes del oleato de sodio.

### **3.8.4 Estabilidad en Aceites y Grasas**

**Prueba de Estabilidad.-** Se entiende por estabilidad de una gasa o aceite a su capacidad de mantener un sabor y olor adecuados, durante su almacenamiento y consumo. Se han desarrollado varios métodos para determinar la estabilidad de una grasa, como son el método de la estufa,<sup>52</sup> que originalmente se diseñó para evaluar estabilidad de productos grasos y de panificación. En este método se evalúa periódicamente el olor de la muestra

almacenada a 63°C hasta detectar rancidez, considerando que un día de incubación en estas condiciones corresponde a 6-10 días a 21°C. La prueba de absorción de oxígeno, en la cual la muestra se calienta en presencia de oxígeno y se detecta el incremento en el peso, mismo que es proporcional a la adición de oxígeno. Sin embargo un método más reciente y rápido es el método del oxígeno activo.<sup>18</sup>

**Método del Oxígeno Activo (AOM).**- Con este método se obtiene la cantidad de horas necesarias para tener un valor de peróxido de 100 a 100°C. Consiste en hacer burbujear a la muestra, mantenida a 100°C, una corriente de aire a un flujo establecido y se determina la rancidez por el olor característico del aire que circula. Con la aplicación de este método se han establecido distintas correlaciones, en especial con el índice de peróxidos y la aparición del olor que caracteriza a la rancidez. De esta manera se ha observado que para la manteca de cerdo se detecta la rancidez en un índice de peróxidos de 20; para los aceites hidrogenados es de 70 y para los aceites vegetales como algodón y soya es de 100. Se obtiene mayor objetividad por la determinación de peróxidos a intervalos de tiempo regulares y una gráfica de tiempo en función del valor de peróxidos. Se puede interpolar en la gráfica el valor del tiempo en horas necesario para alcanzar determinado índice de peróxidos. Este método se utiliza preferentemente para establecer la estabilidad inicial de una grasas o aceite con o sin antioxidantes. El método del oxígeno activo es una prueba rápida ya que el tiempo se reduce hasta en veinte veces el necesario en la prueba de la estufa; sin embargo, al hacer una correlación entre los valores obtenidos por este y el tiempo de conservación del aceite en condiciones normales de almacenamiento, se encuentran diferencias. El equipo desarrollado para determinar la estabilidad de grasas y

aceites en la industria sigue el mismo principio antes mencionado y automáticamente da el resultado; este equipo se llama Rancimat.<sup>52</sup>

### **3.9 CROMATOGRAFIA DE GASES**

Es un método en el cual se separa una mezcla en sus constituyentes, distribuyéndose entre dos fases, una fase móvil y una estacionaria. La fase móvil es un gas inerte o no retenible que sirve para transportar la muestra a través de la columna y recibe el nombre de gas acarreador. La fase estacionaria es un sólido de tamaño de partícula controlado y en donde la retención selectiva de los componentes en la muestra en cuestión se debe a fenómenos consecutivos de adsorción y desorción, puede ser también un líquido de baja volatilidad, dispuesto sobre un sólido que actúe como soporte (cromatografía gas líquido). En este tipo de análisis la muestra se inyecta en el bloque de calentamiento, en donde se vaporiza instantáneamente y con ayuda del gas acarreador se transporta hacia la entrada de la columna, los solutos se adsorben en la columna en la fase estacionaria y después son desorbidos al hacer pasar gas portador puro, cada soluto se moverá a través de la columna de acuerdo a su coeficiente de partición y formará una banda por cada uno, estos entran al detector que está conectado a la salida de la columna y si se usa un registrador, las señales aparecen en la gráfica como una curva, de la composición de la corriente del gas en función del tiempo.

Las partes principales de un cromatógrafo de gases son:

Fuente de gas acarreador.- Es un gas inerte que transportará a la muestra, no debe degradarla, ni interactuar con la fase estacionaria, deberá tener baja viscosidad y ser compatible con el detector utilizado.

Sistema de Inyección.- Es donde se introduce la muestra que posteriormente se transporta a la columna, generalmente se hace con una jeringa hipodérmica a través de un diafragma de hule autosellante en un bloque metálico. Debido a que la muestra debe vaporizarse totalmente e instantáneamente, la temperatura del sistema de inyección debe ser superior a los puntos de ebullición de todos los componentes.

Columna.- Existen dos tipos de columnas las empacadas y tubulares abiertas, las primeras son tubos rellenos de un soporte inerte, recubierto con una fase líquida no volátil en el caso de cromatografía gas-líquido, su longitud suele ser de 0.7 a 2 m.

Las columnas tubulares abiertas a diferencia de las empacadas, es un orificio sin restricciones y el medio separador está en forma de recubrimiento sobre las paredes del tubo. La caída de presión es mucho menor que en las columnas empacadas de la misma longitud, lo que permite emplear columnas muy largas, que varían de 30 a 300 m. En este tipo de columnas el tubo es de aproximadamente 0.5 mm, los flujos son más rápidos (4-10 ml/min) y el volumen muerto de las conexiones es menos crítico. El uso de estas columnas permite análisis relativamente rápidos, proporciona un método para separar compuestos muy semejantes y mejor resolución <sup>59</sup>

Detector de Ionización de Flama.- Está situado a la salida de la columna y registra el arribo de los componentes separados a medida que salen de la columna produciendo una señal correspondiente, la temperatura del compartimiento del detector debe ser suficientemente alta para evitar la condensación de los vapores de la muestra, pero sin llegar a causar su descomposición. Consiste en una pequeña flama de hidrógeno quemándose en un exceso de aire y rodeada por un campo electrostático. Los compuestos orgánicos que salen de la columna se queman y durante la combustión se forman fragmentos iónicos y electrones

libres que se colectan, produciendo una corriente eléctrica proporcional a la velocidad de entrada de la muestra a la flama. Este detector solo responde a átomos de carbono oxidables y la respuesta es proporcional al número de átomos en el componente de la muestra. La insensibilidad al agua, gases CO y CO<sub>2</sub> es una ventaja para el análisis de extractos acuosos en los estudios de contaminación del aire. La detección es de aproximadamente 20 pg de peso de la muestra o 5 ng/ml de concentración gaseosa, siendo el intervalo lineal 10<sup>7</sup>.

Registrador.- La señal eléctrica producida en el detector es amplificada y se transmite como una banda sobre el papel o también puede convertirla en una señal digital y ser transmitida a un sistema de microcomputadora. Generalmente el cromatograma se obtiene en un registrador de papel enrollado, conectado a la señal de salida de la unidad detector-amplificador, ésta salida debe ser lineal con respecto a la concentración, también el flujo del gas portador debe ser constante, de tal manera que las abscisas de tiempo puedan convertirse en volúmenes de gas portador. La respuesta de la plumilla del registrador debe ser igual a la velocidad de respuesta del detector y de no ser así es necesario acoplar un dispositivo de integración. Bajo estas condiciones el área del pico se puede considerar proporcional a la concentración de la muestra y de esta manera permite realizar un análisis cuantitativo.

Inicialmente la cromatografía de gases fue empleada para separar compuestos volátiles como alcoholes y otros compuestos de importancia en la industria de alimentos. Las técnicas cromatográficas tienen mucho valor en el proceso de los alimentos, ya que constituyen un instrumento importante en la resolución de problemas tecnológicos como son: desarrollo de olores, determinación de compuestos volátiles que influyen en la calidad del sabor de los alimentos, determinación y cuantificación de algunas vitaminas como la D,

A, K, complejo B , carotenos y tocoferoles. También es posible determinar y cuantificar ácidos grasos en grasas y aceites, antioxidantes y esteroides de algunos alimentos. Anteriormente no era posible determinar carbohidratos, ácidos grasos y proteínas por cromatografía de gases; sin embargo, este tipo de compuestos se pueden hacer volátiles formando un derivado apropiado. El desarrollo de la cromatografía de gases junto con la aplicación de sistemas acoplados a permitido una mejor aplicación.<sup>32</sup>

### **3.10 PORCIENTO DE SÓLIDOS EN ACEITES Y GRASAS**

Este valor se refiere al porcentaje de sólidos de una grasa a diferentes temperaturas (Nt) y, por consiguiente, el porcentaje de grasa líquida es  $100 - Nt$  a la misma temperatura. Se puede trazar una gráfica con los valores de Nt en función de la temperatura y la curva obtenida representa los datos detallados sobre las propiedades físicas de una grasa y determina sus propiedades y usos. Así, un valor alto de sólidos a  $25 - 30^{\circ}\text{C}$ , significa que la grasa es dura y quebradiza a temperatura ambiente y también resistente al calor. Un descenso rápido de la curva indica que la grasa se vuelve líquida con una elevación moderada de la temperatura. Si esto ocurre a unos grados por debajo de  $37^{\circ}\text{C}$ , la fusión rápida de la grasa da como resultado una sensación refrescante. Las grasas con contenido de sólidos bastante elevados por encima de los  $37^{\circ}\text{C}$  dan una sensación cerosa en la boca.<sup>31</sup> Actualmente el método más conveniente para determinar el contenido de sólidos en por resonancia magnética nuclear, ya que es más rápido, reproducible y relativamente simple comparado con el método por dilatometría.<sup>18,52</sup>

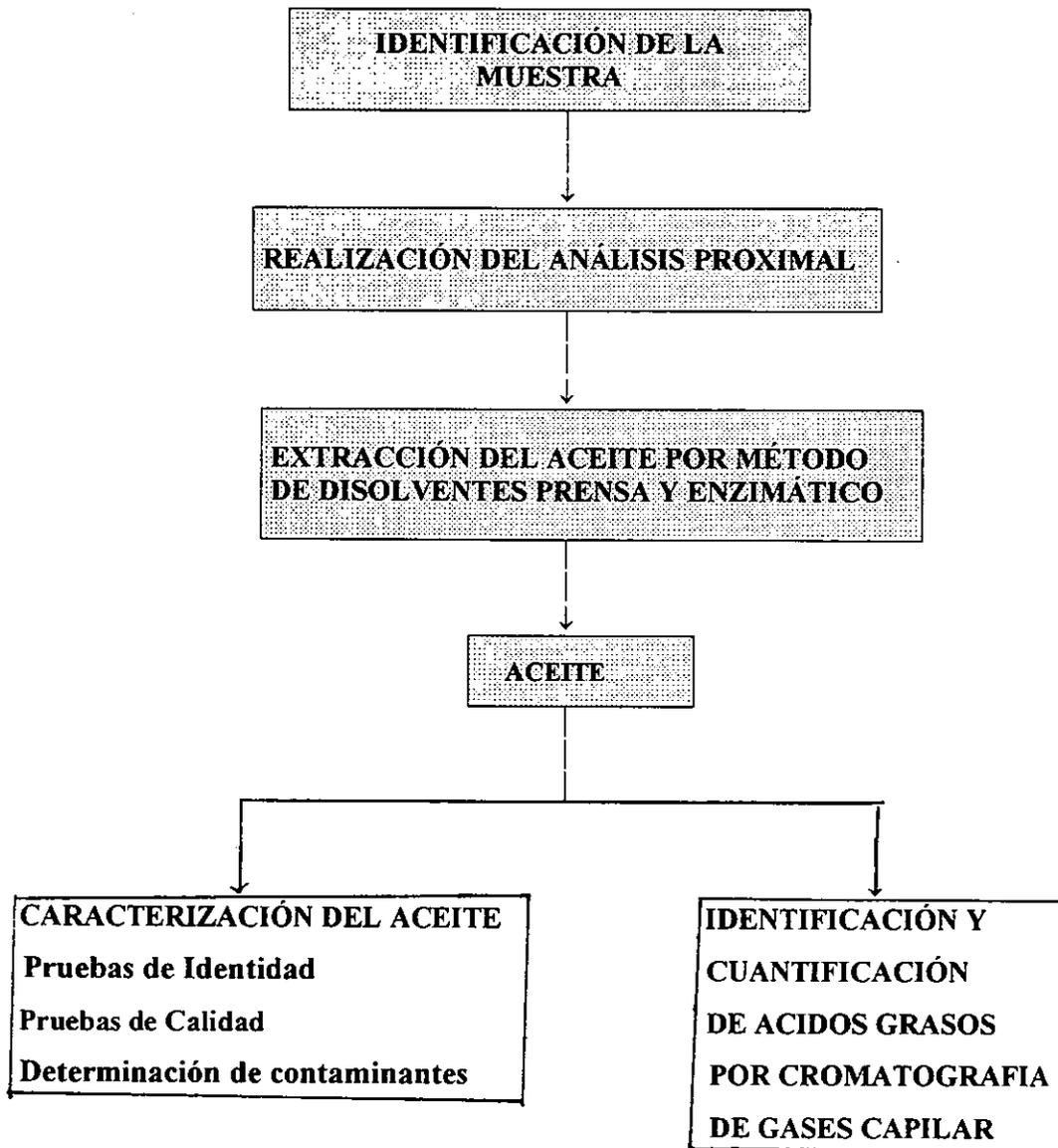
**3.10.1 Dilatometría.-** Es una técnica para medir indirectamente el contenido de grasa sólida. Se basa principalmente en los cambios específicos de volumen que ocurren con los cambios de temperatura en la grasa, ya que ésta se expande cuando se funde y generalmente

se contrae cuando experimenta cambios polimórficos a una forma más estable. Sin embargo esta prueba requiere de mucho tiempo y es difícil determinar el contenido preciso de grasa sólida y líquida e incluso a veces es imposible cuando se trata de una mezcla compleja de triglicéridos.<sup>52</sup>

**3.10.2 Resonancia Magnética Nuclear.-** Esta técnica proporciona una medida directa de la proporción de grasa sólida presente en una muestra. El fenómeno involucrado se basa en la orientación dipolar que ciertos núcleos de átomos son capaces de mantener en un campo magnético aplicado. Los átomos con número atómico y número de masa par como son  $C_6^{12}$  y  $O_8^{16}$ , no son capaces de presentar este fenómeno debido a que tienen un espín nuclear igual a cero. El  $H^1$  tiene un espín distinto de cero ( $I = \frac{1}{2}$ ), por lo que sí puede responder a un campo magnético. La intensidad de campo magnético en el centro de una banda de resonancia del  $H^1$  siempre tiene el mismo valor para una frecuencia dada y es característica de la muestra en cuestión, pero la forma de la banda está influenciada por el estado físico y químico de la muestra. El ancho de la banda de absorción está relacionado con la movilidad del hidrógeno o la de los compuestos que lo contienen y la homogeneidad del campo. Debido a que en un sólido el núcleo está fijo rígidamente se obtiene una banda relativamente ancha. En un líquido las moléculas tienen mayor movilidad y las bandas de absorción son estrechas; por lo que la diferencia en la anchura de las bandas entre sólidos y líquidos se puede usar para determinar el contenido de grasa sólida a diferentes temperaturas, lo que se expresa como  $Nt$ .<sup>18,52</sup>

# **CAPITULO 4**

## **METODOLOGIA EXPERIMENTAL**



## **IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA**

**4.1.1 Origen de Muestra.-** La muestra proviene del estado de Oaxaca, específicamente de Pinotepan de Don Luis, en la Costa de Oaxaca. Se recibieron dos lotes de semilla, uno con cáscara y otro sin cáscara, en este último lote, algunas semillas estaban incluso fracturadas.

**4.1.2 Reconocimiento Físico del Fruto.-** Se pesó 1 Kg de semilla con cáscara y se contaron las piezas, posteriormente se partió cada una de ellas y se pesó la cáscara y la semilla por separado, midiendo el diámetro del fruto completo y el de la semilla de cada fruto; se registraron los datos de cada fruto y se hizo un análisis estadístico de desviación estándar para determinar el peso promedio y los intervalos, tanto del peso del fruto completo como el de la semilla.

## **4.2 REALIZACIÓN DEL ANÁLISIS PROXIMAL**

En primer lugar se molió finamente la semilla, se desengrasó por extracción continua en un extractor de Soxhlet, usando éter etílico, durante 16 horas y el residuo se mantuvo en cajas de vidrio tapadas, para posteriormente realizar el análisis.

**4.2.1 HUMEDAD (Pérdida por Secado)<sup>51</sup>** A 70 °C y 130 mmHg durante 5 horas

**4.2.2 CENIZAS<sup>51</sup>** (550 °C durante 3 horas)

**4.2.3 PROTEÍNA CRUDA<sup>51</sup>** (Método de Kjeldahl)

Se usó 5.3 como factor

**4.2.4 FIBRA CRUDA<sup>51</sup>**

**4.2.5 GRASA CRUDA O EXTRACTO ETÉREO (Método de Soxhlet)**

La extracción se realizó durante 16 horas, utilizando éter etílico como disolvente.

**4.2.6 CARBOHIDRATOS ASIMILABLES (Por diferencia)**

### 4.3 EXTRACCION DEL ACEITE DE LA SEMILLA DE *Orbignya guacuyule*

#### 4.3.1 Método por Disolventes

Se empleó un extractor Soxhlet, utilizando como disolvente éter etílico. Se mantuvo la extracción durante 16 horas. Posteriormente se evaporó el disolvente del matraz en un evaporador rotatorio y se pesó, para determinar el % de aceite obtenido. Una vez obtenido el aceite se filtró varias veces sobre celita en un matraz Kitasato para eliminar impurezas.

Con el proposito de acumular aceite para las pruebas posteriores, las extracciones sólo se mantuvieron 8 hr ya que se demostró que este tiempo era suficiente para extraer practicamente la totalidad del aceite

#### CALCULOS

$$\text{Aceite Obtenido (\%)} = \frac{(\text{Peso matraz con extracto} - \text{peso matraz vacío})}{\text{Gramos de muestra}} \times 100$$

$$\text{Eficiencia del Método} = (\% \text{ de aceite obtenido} / \% \text{ de aceite en la muestra}) \times 100$$

#### 4.3.2 Método por Prensa

Se utilizó una prensa hidráulica Carber Modelo 2697 de 11 toneladas de fuerza.

Se pesaron 200 g de muestra y se colocaron en una charola de aluminio; esta se adaptó a la prensa de tal manera que al prensar no hubo contacto con el aceite de la muestra. Se aplicó una fuerza de 9 toneladas, durante 5 min; posteriormente se recolectó el aceite en un matraz, usando éter para lavar, se filtró varias veces por celita en un matraz Kitasato para eliminar impurezas sólidas y finalmente se pesó para calcular el porciento de aceite obtenido

#### CALCULOS

$$\text{Aceite Obtenido (\%)} = \frac{\text{Gramos de aceite obtenido}}{\text{Gramos de muestra}} \times 100$$

Eficiencia del Método = (% de Aceite de obtenido / % de aceite en el fruto) X 100

#### 4.3.3 Método Enzimático<sup>6,11</sup>

Se pesaron 200 g de muestra, se molieron en la licuadora con 100 ml de agua destilada, y se vaciaron a un vaso de precipitados de 1 litro, se lavaron los residuos de la licuadora con 100 ml de agua y se vaciaron al vaso de precipitados. Posteriormente se agregó 1.0 g de enzima proteasa y 200 ml de agua, se calentó el vaso de precipitado con agitación constante hasta una temperatura de 50°C; una vez alcanzada esta temperatura se adicionó 1.0 g de alfa amilasa y 1 ml de pectinasa, manteniendo la mezcla a 50°C durante 90 min. Después de este tiempo se separó el aceite, para lo cual primero se decantó el líquido para separar los sólidos. La fase líquida se centrifugó en varios tubos a una velocidad de 7000 rpm durante 15 min. El aceite se vació a un vaso de precipitados de 150 ml y se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró sobre zelita en un matraz kitasato y finalmente se pesó. Cabe mencionar que el volumen de aceite obtenido fue muy inferior al esperado y es probable que esto se deba a que no se centrifugó a 10000 rpm como lo indica la metodología original.<sup>6</sup>

Enzimas Empleadas: HT- Proteolitic 223 NU/g, Novo 26-10-94, Pectinex 3XL Batch A 047-90-5 Termamyl, Alfa- amilasa (líquida) Tenasa 356.000 WNU/g

#### CALCULOS

Aceite Obtenido (%) =  $\frac{\text{Gramos de aceite obtenido}}{\text{Gramos de muestra}} \times 100$

Eficiencia del Método = (% de Aceite de obtenido / % de aceite en el fruto) X 100

#### **4.4 ANALISIS FISICOQUIMICO DEL ACEITE DE *Orbignya guacuyule***

##### **4.4.1 Determinación de Características de Identidad (Apendice 111)**

**Densidad ó Gravedad Especifica (Picnómetro)<sup>39</sup>**

**Punto de Fusión (Método Capilar) <sup>51</sup>**

**Indice de Refracción (Por Refractometro de Abbe)<sup>47</sup>**

**Indide de Reichert-Meissl<sup>48</sup>**

**Indice de Polenske<sup>48</sup>**

**Indice de Yodo (Método de Hanus) <sup>39</sup>**

**Materia Insaponificable<sup>50</sup>**

**Indice de Saponificación<sup>49</sup>**

**Prueba Fria <sup>45</sup>**

##### **4.4.2 DETERMINACION DE CARACTERISTICAS DE CALIDAD**

**Indice de Acidez <sup>40</sup>**

**Indice de Peróxido <sup>42</sup>**

**Prueba de Rancidez <sup>44</sup>**

##### **4.4.3 DETERMINACIÓN DE CONTAMINANTES**

**Determinación Sensorial de Impurezas Indeseables (Olor) <sup>46</sup>**

**Humedad y Materia Volátil <sup>43</sup>**

**Contenido de Jabón <sup>10</sup>**

#### **4.5 IDENTIFICACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS CONSTITUYENTES DEL ACEITE DE *Orbignya guacuyule* POR CROMATOGRAFIA DE GASES CAPILAR**

Se determinaron los ácidos grasos constituyentes del aceite del fruto de la palma *Orbignya guacuyule* y del aceite de coco (*Cocos nucífera*), haciendo una comparación de ambos aceites para poder inferir sobre el posible uso del aceite de *Orbignya guacuyule*.

**Obtención y Preparación de la Muestra.-** La muestra empleada en este análisis fue la semilla de la palma *Orbignya guacuyule*, la cual se obtuvo directamente de la planta en el lugar de origen, en el periodo óptimo de su maduración, la semilla se seleccionó en forma manual y se transportó en bolsas de polietileno sin cáscara para su análisis. Para extraer el aceite de coco (*Cocos nucífera*), se compró un coco en un centro comercial, el cual se partió, se dejó secar y finalmente se extrajo el aceite.

**Extracción del Aceite.-** El aceite se extrajo del fruto por tres métodos: Disolventes, enzimático y por prensa que se describen anteriormente. La extracción del aceite de coco se hizo con éter etílico en un extractor Soxlet.

**Preparación de la Muestra.-** Después de extraer el aceite se filtró por zelita para eliminar impurezas, se vació en viales, una cantidad aproximada de 20 g. cada uno, el exceso de éter se evaporó con flujo de nitrógeno, posteriormente se envolvió en papel aluminio y se mantuvo en refrigeración antes de utilizarlo. El aceite obtenido por prensa se filtró varias veces y el aceite obtenido por método enzimático únicamente se secó con sulfato de sodio.

## MATERIAL

Jeringa de 10  $\mu$ l para cromatografía de gases

Matraz aforado de 10 ml

Viales para cromatografía de gases

Pipetas volumétricas de 1 y 2 ml

Pipetas Pasteur con perilla de goma

Propipeta

Sonicador

Frasco de 5 ml con rosca

## REACTIVOS

Isoctano de pureza grado cromatografía J.T. Baker

Metanol de pureza grado cromatografía J.T. Baker

Acetona grado analítico

Acido clorhídrico grado analítico J.T. Baker

Hidróxido de sodio grado analítico J.T. Baker

## ESTANDARES

Acidos caprílico, cáprico, laúrico, margárico, mirístico, esteárico, linoleico y linolénico de SIGMA CHEMICAL CO. USA, ácido palmítico de CHEM. SERVICE CO. USA y ácido oléico de ALDRICH CHEMICAL inc. USA.

## PARTE EXPERIMENTAL

Para la formación de derivados, se pesaron 10 mg de aceite en un vial y se agregó 1 ml de hidróxido de sodio al 5 % en metanol-agua (50:50), se calentó durante 30 min a 100 °C y después se enfrió a temperatura ambiente, posteriormente se adicionó 1.5 ml de ácido clorhídrico al 25 % en metanol, se agitó y calentó a 80 °C durante 10 min. Finalmente se extrajeron los ésteres metílicos (derivados), con isooctano y se inyectó 1 µl en el cromatógrafo.

Para la formación de ésteres metílicos de los ácidos grasos estándares, se pesaron 10 mg de cada uno en el mismo vial y se siguió el mismo procedimiento que la muestra.

**Condiciones Cromatográficas.-** Se empleó un cromatógrafo de gases Hewlett Packard, serie 5880 A con inyección Split-Splitless acoplado a un detector de ionización de flama y terminal Hewlett Packard 5880 serie GC.

Se utilizó una columna capilar de sílice fundida Carbowax 20 M de 30 m de longitud, con un diámetro interno de 0.32 mm y 0.25 micras de grosor de fase estacionaria.

Temperatura del horno 220 °C

Temperatura del inyector 220 °C

Temperatura del detector 220 °C

### **Programa de Temperaturas**

Temperatura inicial 100 °C, incrementándose a 10 °C/min, durante 5 min hasta 220 °C, se trabajó a presión constante.

**Identificación y Cuantificación de los Acidos Grasos.-** La determinación de los ácidos grasos se hizo comparando los tiempos de retención obtenidos en la mezcla de estándares con los obtenidos en las muestras bajo las mismas condiciones cromatográficas.

El análisis cuantitativo se realizó por el método de normalización de áreas, determinando el porcentaje relativo de cada pico en el cromatograma, considerando que es proporcional a la concentración.

Cada muestra se preparó por triplicado y de cada preparación se realizaron tres inyecciones para verificar que fuera reproducible.

## CAPITULO 5

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

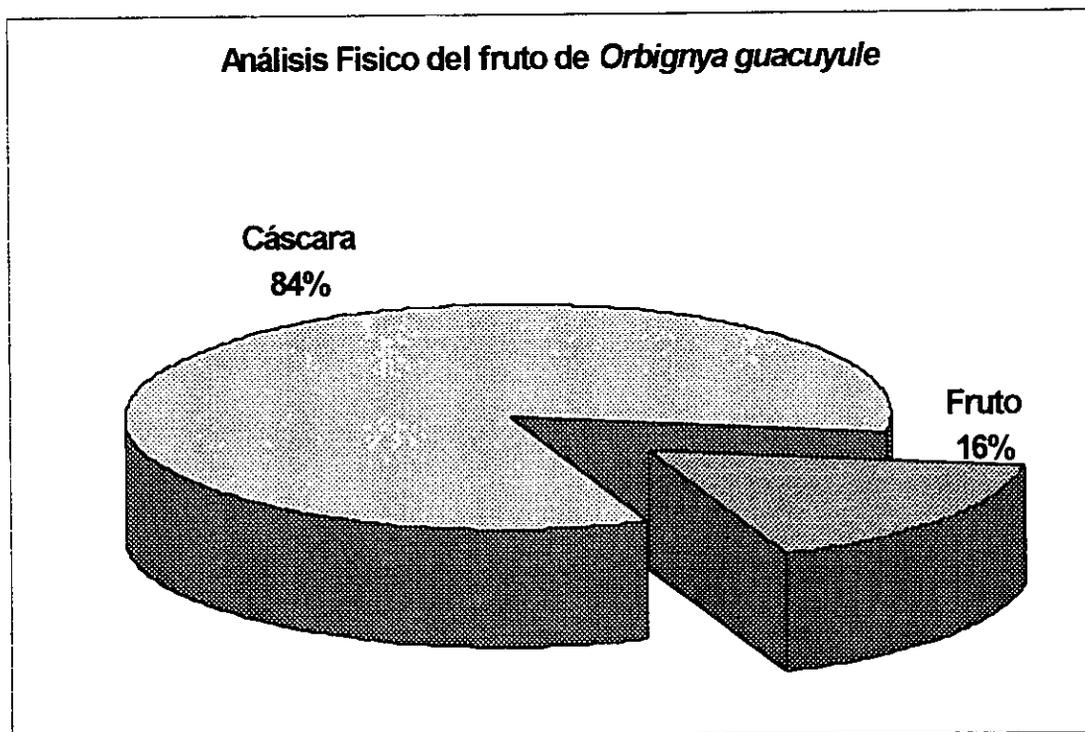
#### 5.1 ANALISIS FÍSICO DEL FRUTO DE *Orbignya guacuyule*

Número	Peso del Fruto (g)	Peso cáscara (g)	Diámetro (cm) de la semilla	Peso de la semilla (g)
1	29.1483	24.6833	2.0	4.465
2	33.1921	24.4453	1.3, 1.2, 1.0	8.7686
3	32.0735	25.7537	2.0	6.3198
4	30.2978	25.7540	2.0	4.5438
5	34.0049	29.9994	1.7	4.0055
6	26.0916	22.5634	1.6	3.5282
7	28.4494	23.5293	1.8	4.9201
8	24.4420	19.5994	1.8	4.8426
9	24.1847	20.4246	1.8	3.7601
10	30.5431	26.0288	1.8	4.5143
11	30.9010	26.4546	1.7	4.4464
12	30.3200	25.5586	1.9	4.7614
13	27.3240	23.0647	1.9	4.3193
14	21.4447	17.8820	1.8	3.5627
15	29.5344	24.9108	1.7	4.6236
16	25.7794	21.3910	1.8	4.39
17	24.0619	19.8739	1.7	4.188
18	26.9140	22.4211	1.8	4.4429
19	33.9392	29.6999	1.9	4.2393
20	23.6660	19.6005	1.7	4.0655
21	29.5414	24.8874	1.8	4.654
22	25.7446	22.3839	1.7	3.3607
23	26.6250	20.8553	1.6	5.7697
<b>Promedio</b>	28.31	23.51	1.77	4.62
<b>Intervalo</b>	24.77 – 31.59	20.49 – 26.62	1.68 – 1.90	3.5 – 5.7
<b>Rendimiento (Cáscara-semilla) = 16.35 %</b>			<b>Longitud del fruto = 7.5 cm</b>	

Tabla No 5.1

Para hacer el estudio físico de la muestra, se pesaron 23 frutos (aproximadamente 1 Kg), cada uno, partió cuidadosamente, fue necesario hacer varios cortes a la cáscara con una segueta y después romper con una prensa manual. Se pesó la semilla y la cáscara por

separado. En la tabla 5.1, se reportan los resultados, en donde se puede observar que el peso promedio del fruto es de 28.3 g y el de la semilla 4.62 g



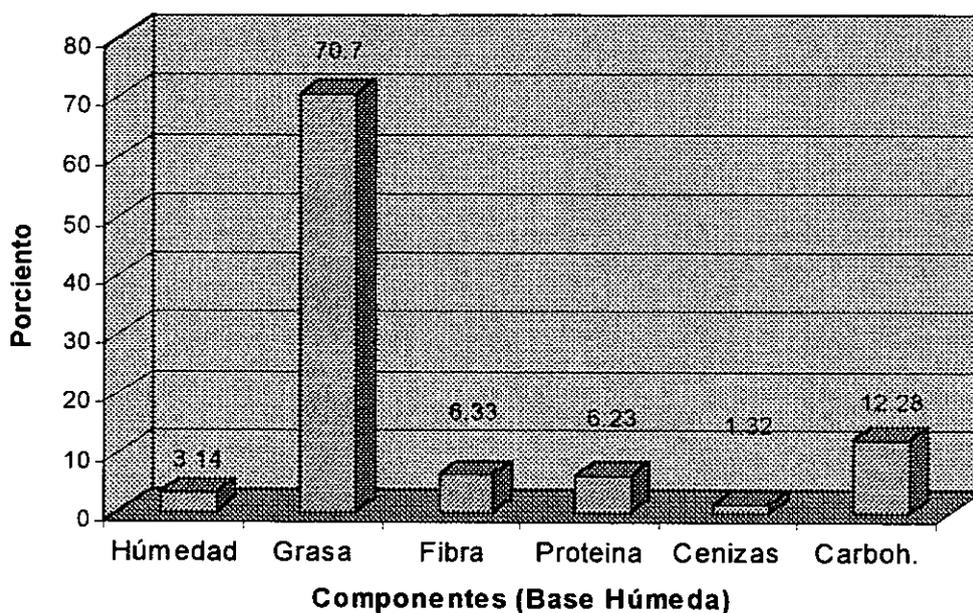
Gráfica No 5.1

En la gráfica No.5.1 se muestra la proporción de semilla con respecto al total del fruto que es respectivamente de 16 y 84 % lo que nos da un rendimiento del 13 al 20 %, es decir del 80 al 87 % es cáscara. El contenido de aceite en cada fruto es alto comparado con otras semillas y la producción de frutos por la palma es considerable, porque cada una produce más de 800 frutos por inflorescencia, dando dos y en algunos casos tres inflorescencias al año, lo que representa una producción de 45.2-67.9 Kg de fruto.

## 5.2 ANALISIS PROXIMAL DEL FRUTO DE LA PALMA *Orbignya guacuyule*

	<i>Orbignya guacuyule</i>	
Humedad (%)	3.14	Base Seca
Grasa cruda (%)	70.70	72.92
Fibra cruda (%)	6.33	6.53
Proteína cruda* (%)	6.23	6.45
Cenizas (%)	1.32	1.36
Carbohidratos (%)	12.28	12.70

Tabla No 5.2



Gráfica No 5.2

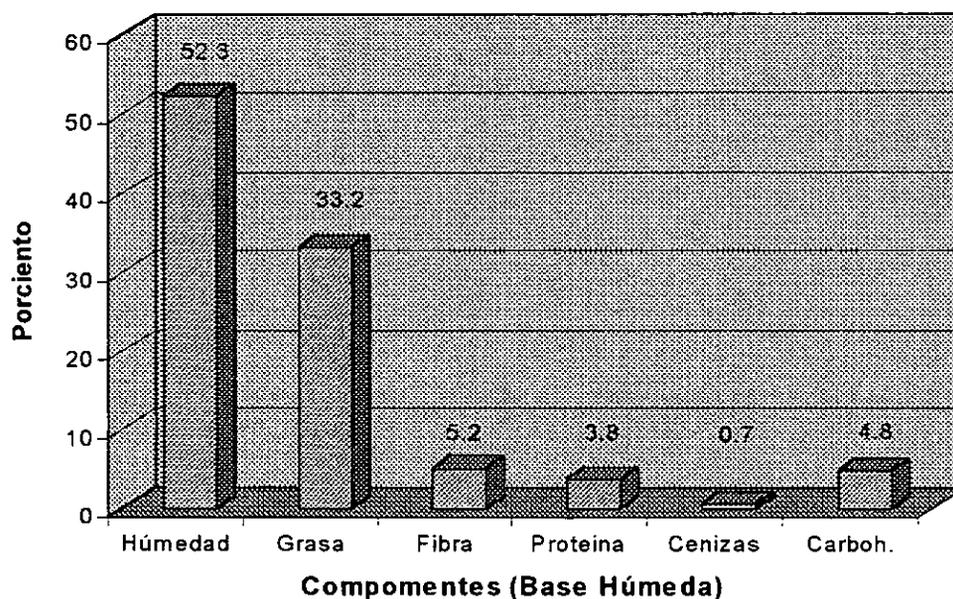
- En la determinación del contenido de proteína se utilizó el factor 5.3 que es el reportado para coco.

Como se observa en la tabla 5.2 y su respectiva gráfica, los principales componentes del fruto de *Orbignya guacuyule* son: grasa, carbohidratos, fibra, proteínas y un bajo contenido de humedad que es de 3.14%. Es importante mencionar que el contenido de proteína y fibra, 6.45 y 6.53 % respectivamente, es considerable, por lo que el residuo de extracción puede utilizarse como complemento en otros alimentos o para alimento de ganado con alto valor nutritivo. Como parte de otro trabajo dedicado a caracterizar el residuo de extracción del fruto de *Orbignya guacuyule* se evaluó la calidad nutritiva de la proteína por medio de pruebas biológicas.

### 5.2.1 Análisis Proximal de coco (*Cocos nucifera*)<sup>30</sup>

	Cocos nucifera * (coco comercial)	
Humedad (%)	52.3	Base Seca
Grasa Cruda (%)	33.2	69.60
Fibra Cruda (%)	5.2	10.90
Proteína Cruda (%)	3.8	7.96
Cenizas (%)	0.7	1.46
Carbohidratos (%)	4.8	10.08

Tabla No 5.3



Gráfica No 5.3

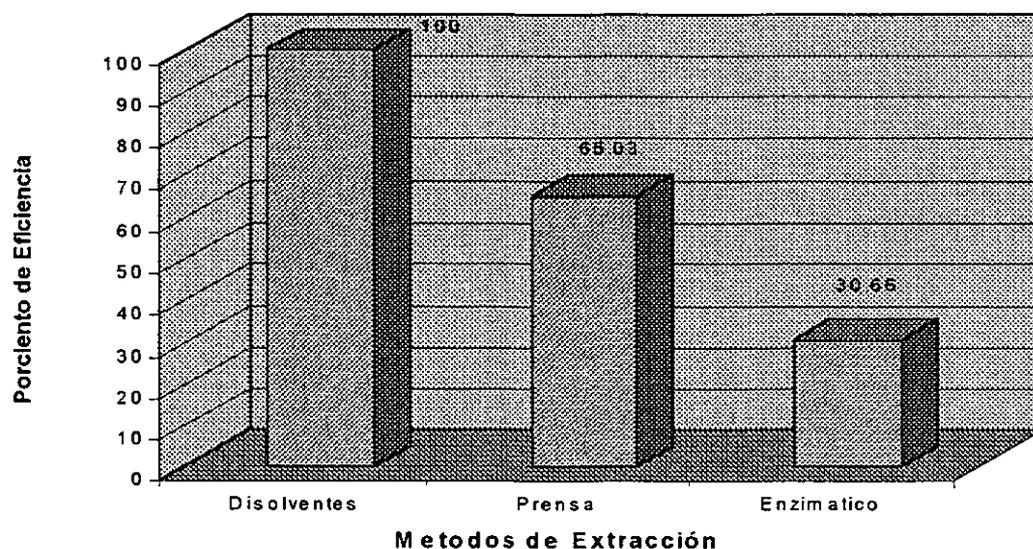
En esta gráfica se puede observar que el contenido de humedad en coco es muy alta (52.3%), si embargo en base seca los componentes se concentran siendo el principal grasa cruda con 69.6 %, fibra 10.9%, carbohidratos 10.08 y proteína 7.96, de acuerdo a estos valores el residuo de extracción tiene mayor cantidad de fibra y proteína que el de *orbignya guacuyule*. Sin embargo en este por su bajo contenido de humedad (3.14%) se facilita la extracción del aceite ya que no requiere secar antes la semilla. En coco comercial (*Cocos nucifera*) es necesario secar el fruto antes de extraer el aceite para obtener la copra, el contenido de humedad debe reducirse de 53 % a 1.5-

2.5 %, cuando este proceso se hace por secado al sol ya que es más económico, se extiende el fruto partido a temperatura ambiente el tiempo necesario para tener el contenido de humedad deseada. Este proceso favorece la contaminación microbiana provocando pérdidas de hasta el 30 %; de los cuales el 10 % por desarrollo de microorganismos principalmente hongos, 10 % por ataque de insectos y roedores, 5 % aproximadamente permanece en la copra después de la extracción y 5 % debido a la alta concentración de ácidos grasos libres producidos en el aceite por la acción de lipasas.

### 5.3 EFICIENCIA DE LOS MÉTODOS DE EXTRACCIÓN

Método de Extracción	Aceite obtenido (%)	Eficiencia de Extracción (%)
Disolventes	72.90	100
Prensa	47.41	65.03
Enzimático	22.35	30.66

Tabla No 5.4



Gráfica No. 5.4

Se hizo la extracción del aceite por tres métodos diferentes: enzimático, disolventes y por prensa. Con base en el porcentaje de grasa que se obtuvo en el análisis proximal, se

determinó la eficiencia de los métodos, y debido a que la extracción con disolventes se hizo en las mismas condiciones, representa la mayor eficiencia 100 %. En la tabla 5.4 se muestran la cantidad de aceite obtenido en cada método, determinando una eficiencia de 65.3 y 30.66 % para los métodos de prensa y enzimático respectivamente, referido al método por disolventes. El método de mayor eficiencia fue el de disolventes; sin embargo, requiere de mayor tiempo y es más caro, mientras que la extracción con prensa es un método rápido y económico porque no requiere de mayor costo que la prensa, pero la eficiencia es 35 % menor que con disolventes. El aceite obtenido por método enzimático tuvo menos impurezas ya que este se separa de la mezcla final por centrifugación, lo que es posible que elimine algunas impurezas, pero su eficiencia fue 69 % menor que la de disolventes. Este método se desarrolló para extracción de aceite de coco, en el cual se pretendía eliminar el proceso de secado debido al alto contenido de humedad, pero el fruto de *Orbignya guacuyule* no requiere previo secado.

Para lograr una buena extracción de aceite en la semilla y con menor costo, se puede aplicar una combinación del método por prensa y extracción con disolventes.

#### 5.4. ANALISIS FISICOQUÍMICO DEL ACEITE DE *Orbignya guacuyule* DE LOS TRES METODOS DE EXTRACCIÓN

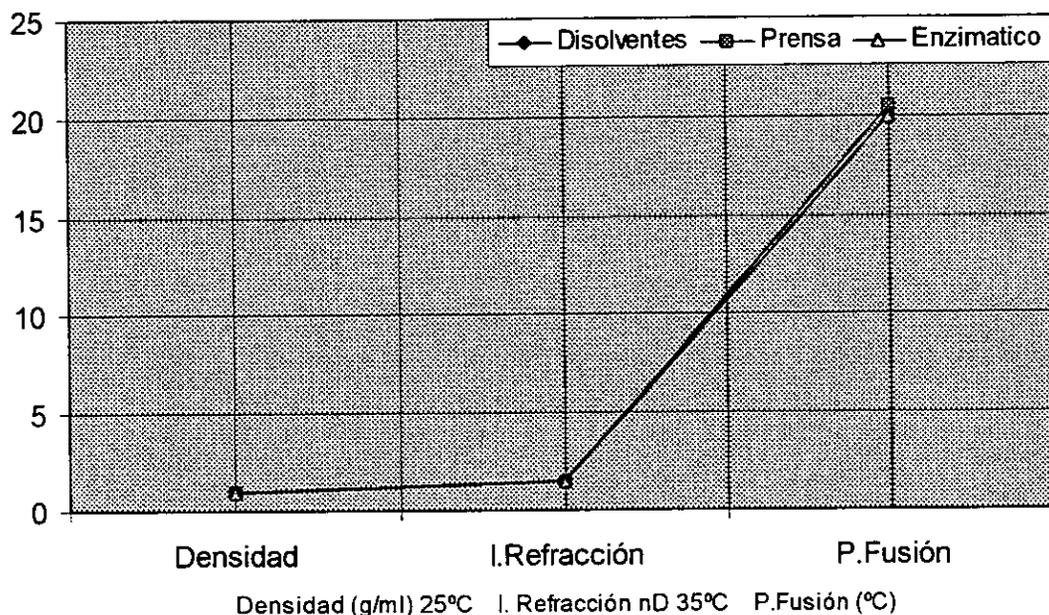
##### 5.4.1 CARACTERÍSTICAS DE IDENTIDAD

ESPECIFICACIONES	METODOS DE EXTRACCIÓN		
	Disolventes	Prensa	Enzimático
Densidad (Peso específico) g/ml	0.92 (25 °C) 0.9104 (40 °C)	0.917-0.920(25°C) 0.9094 (40°C)	0.918-0.920(25 °C) 0.9103 (40°C)
Índice de Refracción (25°C)	1.455-1.456 1.462 (40°C)	1.455-1.456 1.461 (40°C)	1.455-1.456 1.462 (40°C)
Índice de Reicher-Meissl (ml de NaOH 0.1N/5g de muestra)	4.06-5.35	3.68-3.93	5.28-7.62
Índice de Polenske (ml de NaOH 0.1N/5g de muestra)	6.99-7.48	3.87-4.68	5.22-7.87

Índice de Yodo % (g de yodo fijado en 100 g de muestra)	11.20-11.61	14.07-14.54	12.12-12.56
Materia Insaponificable (%)	0.320-0.471	0.0927-0.1036	0.10-0.119
Punto de Fusión ° C	18 – 22	19 – 22	19 – 22
Índice de Saponificación (mg KOH/ g de muestra)	253.6 – 260.7	236.1 – 240.7	230.7 – 235.6
Prueba Fría 0°C	Sólido a T amb.	Sólido a T ambiente	Sólido a T ambiente

Tabla No. 5.5

### Densidad, Índice de Refracción y Punto de fusión en aceite de Orbignya guacuyule

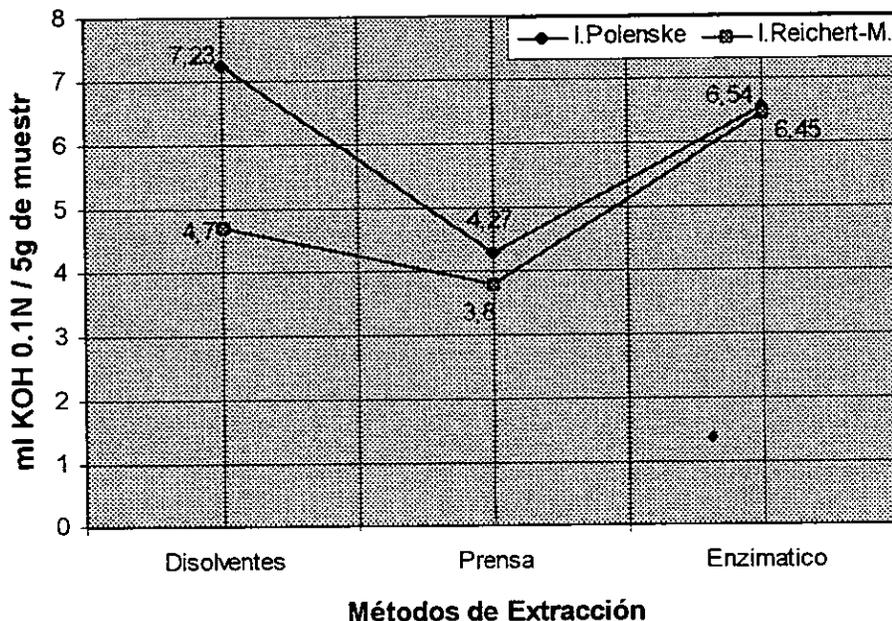


Gráfica No 5.5

En esta Gráfica 5.5 se observa que la densidad, el índice de refracción y el punto de fusión son prácticamente iguales en el aceite obtenido por los tres métodos de extracción. Dado que el índice de refracción es constante siempre y cuando se determinen en las mismas condiciones, se toma como criterio para identificar a los aceites. Debido a que la muestra proviene del mismo fruto, únicamente varió el método de extracción, no se esperaban variaciones en los resultados y estos tres parámetros no son modificados con las condiciones de extracción. La densidad e índice de refracción se determinaron a 25 °C de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana para aceite de coco, pero para poder compararlos con la Norma del Codex Alimentarius, se corrigieron los resultados a 40 °C, la densidad a esta temperatura está dentro de los valores establecidos en ambas normas para aceite de coco y el índice de refracción está muy cercano a los

valores correspondientes, por lo que se puede decir que dichos aceites son parecidos pero no, necesariamente iguales ya que proviene de diferente palma, además los resultados del aceite de Orbignya se refieren a un aceite virgen y la Norma Oficial Mexicana establece los valores para aceite refinado.

### Indices de Polenske y Reichert-Meissl en aceite de Orbignya guacuyule

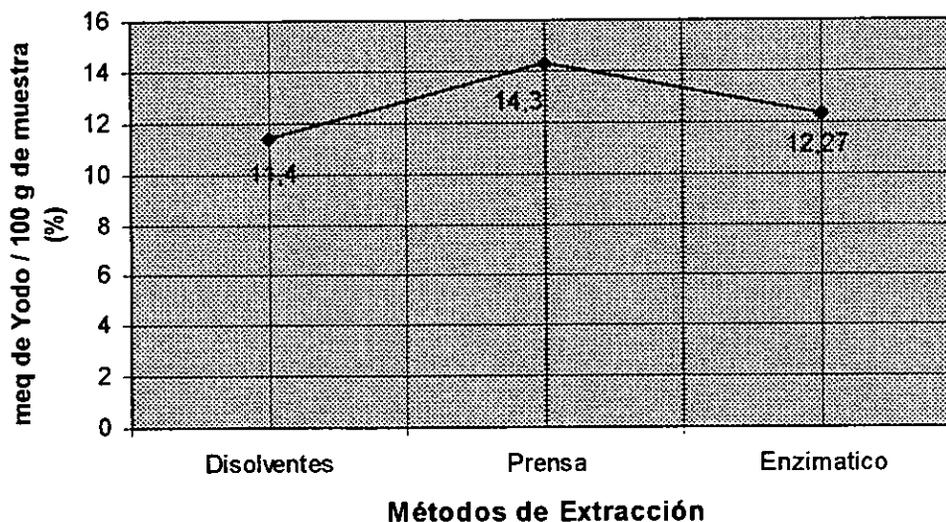


Gráfica No. 5.6

El índice de Richert-Meissl determina los ácidos grasos solubles en agua volátiles en vapor que son principalmente C 4 y C 6. Dichos valores varían considerablemente en el aceites de cada método, indicando que en el aceite obtenido por enzimas hay mayor cantidad de ácidos grasos volátiles debido a que da un valor de 6.45 (gráfica No 5.6) y menor en aceite por prensa (3.8). Sin embargo, estos valores no coinciden con el análisis de cromatografía de gases ya que no se encontraron ácidos grasos de menos de 8 carbonos, lo que indica que esta determinación no es estrictamente cuantitativa y debido a las condiciones experimentales en que se realiza no puede ser confiable. Es posible que los ácidos grasos de menos de 10 carbonos no se hallan detectado debido a que la temperatura inicial durante el análisis fue muy alta, en el caso de que dichos ácidos estuvieran presentes en la muestra sería necesario disminuir la temperatura inicial para poder detectarlos.

El Índice de Polenske determina principalmente C 8, C10 y C 12, se obtuvo el valor más bajo en aceite obtenido por prensa y el más alto en el de disolventes. Tal como se esperaba este índice es mayor que el de Richert ya que hay una alta concentración de estos ácidos principalmente Láurico (C 12) y por cromatografía de gases se determinó que este ácido está presente en 45.9-48.9 % (Tabla No 5.8). Cabe mencionar que estas especificaciones se determinan para comparar con las normas oficiales, pero no nos dan la cantidad total de dichos ácidos, por tal razón se considera una determinación empírica. Pero si se requiere saber la cantidad exacta es necesario determinarlos por cromatografía de gases que es una técnica analítica más sensible, específica y rápida.

**Índice de Yodo de aceite de Orbignya  
para cada método de extracción**



Gráfica No. 5.7

El índice de yodo es una medida del promedio de las insaturaciones presentes en el aceite. Como se observa en la gráfica 5.7 el valor más bajo se obtuvo en el aceite obtenido por disolventes, el más alto en el de prensa y en un valor medio el enzimático. Esto se debe principalmente a las condiciones de extracción, ya que varían en cada método. Por ejemplo, en el de prensa únicamente se presiona la semilla hasta que sale el aceite, se filtra con un poco de disolvente pero se elimina fácilmente, por lo que los ácidos grasos insaturados no se descomponen y el índice de yodo es mayor. En el

método por disolventes la extracción se hizo con éter etílico, que también disuelve lípidos oxidados, el exceso de disolvente se eliminó por evaporación con calor y el tiempo de extracción fue de 8 horas, en estas condiciones los ácidos grasos insaturados pueden descomponerse, resultando un índice de yodo menor. En el método enzimático se utiliza una temperatura ligeramente alta, pero no suficiente para oxidar a los lípidos. De los valores obtenidos se puede concluir que el del método de disolventes, es el más confiable, por tener una desviación estandar más baja, además de ser el método más utilizado en la extracción de aceites.

**Índice de Yodo en varios aceites vegetales (20)**

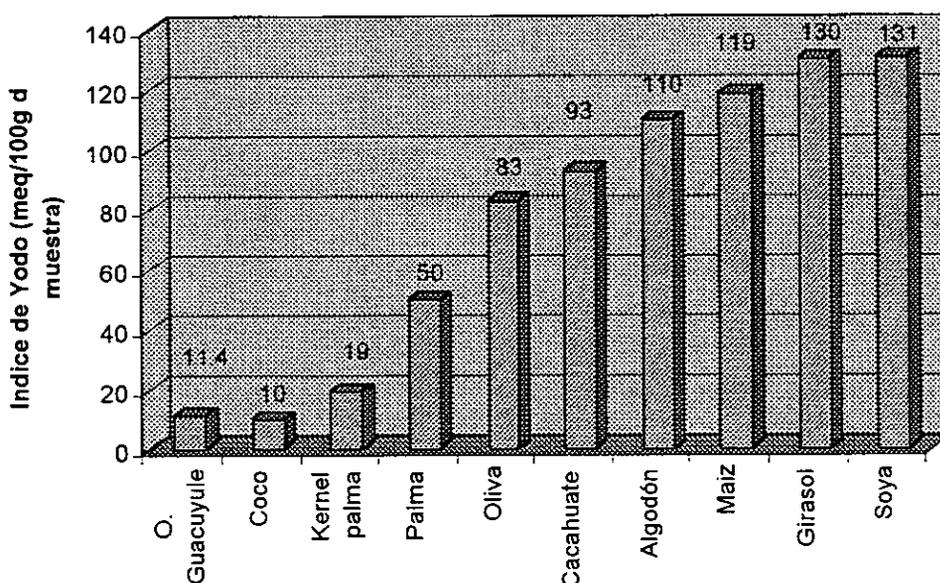
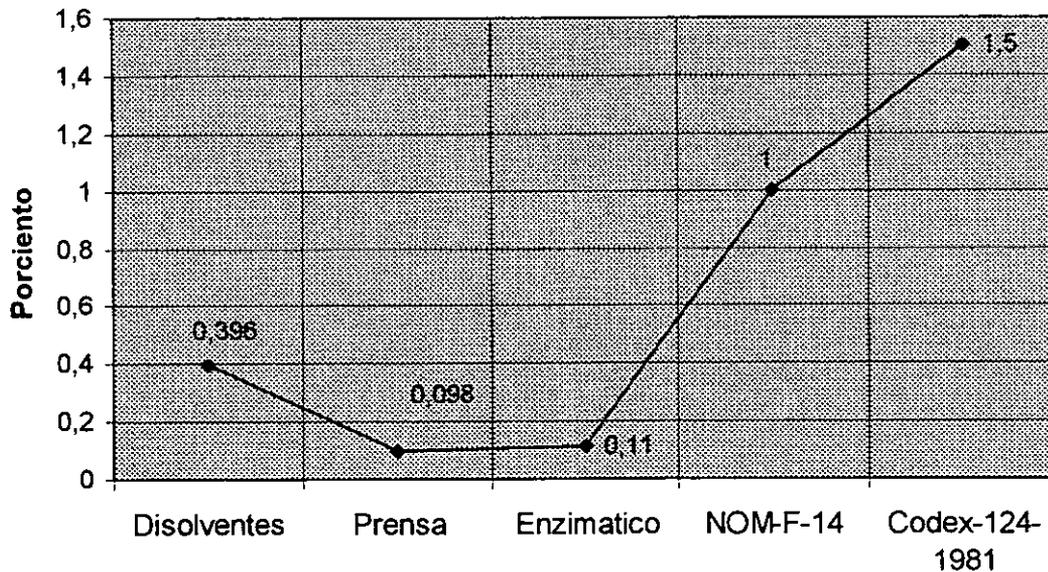


Tabla 5.8

Al compara el índice de yodo del aceite de *Orbignya guacuyule* con otros aceites, como se observa en la gráfica No. 5.7, este únicamente supera al aceite de coco, pero el grado de insaturación es mucho menor que aceite de algodón, maíz, girasol y soya, por lo tanto el aceite de Orbignya es poco insaturado y se puede considerar más estable que los demás aceites vegetales.

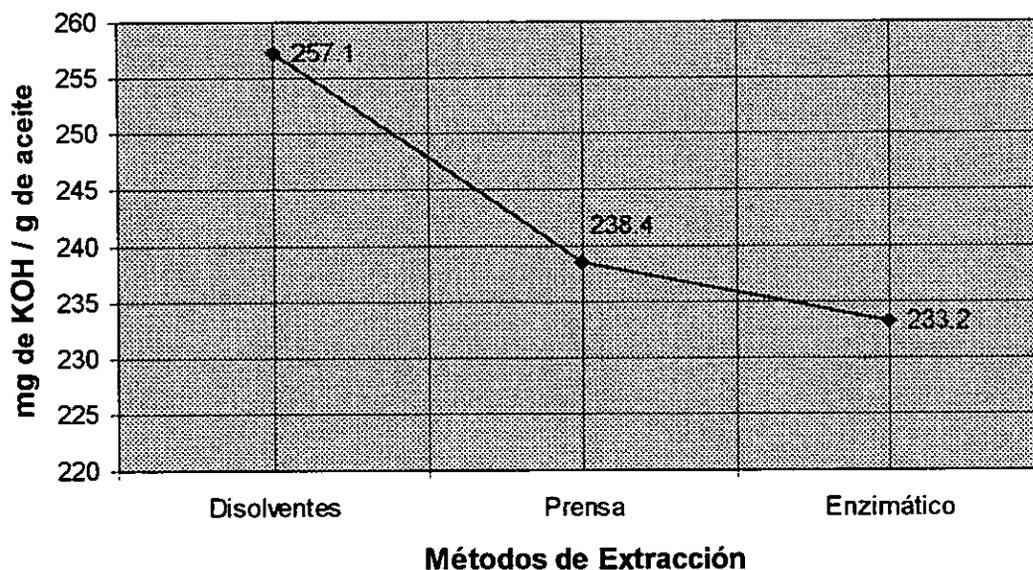
### Materia Insaponificable en aceite de Orbignya para cada método de extracción



Gráfica No 5.9

La cantidad de materia insaponificable, es todo lo que no se saponifica con KOH y es principalmente lo que se debe eliminar durante el proceso de refinado. Se puede considerar que un valor alto en materia insaponificable, implicó que el aceite es más impuro. En el aceite obtenido por disolventes como se observa en la gráfica No 5.9, se obtuvo un valor de 0.396 % para el aceite obtenido por disolventes, 0.098 % en el de prensa y 0.11 % en el enzimático, en dichos valores se observa claramente los efectos de la extracción, ya que por disolventes se extrae todos lo que sea soluble en éter, en prensa únicamente lo que sale al presionar la semilla y en método enzimático la extracción es más selectiva por lo tanto se obtuvo menos materia insaponificable. Nuevamente los valores obtenidos en el aceite de *Orbignya* están muy por debajo de los máximos permitidos en la Norma Oficial Mexicana para un aceite refinado y el Codex Alimentarius que se refiere a aceite virgen.

### Índice de Saponificación en aceite de *Orbignya guacuyule*



Gráfica No. 5.10

En el índice de saponificación es una medida del peso molecular promedio de los ácidos grasos que constituyen al aceite. Como se observa en la gráfica No 5.10, en el aceite obtenido por disolventes se obtuvo un valor 7.3 % mayor que el de prensa y 9.3 % mayor, que el enzimático, por lo que es posible que el aceite extraído por disolventes tenga ácidos grasos con menor peso molecular, por que requiere más hidróxido de potasio para neutralizar todos los ácidos grasos. El índice de saponificación del aceite de *Orbignya guacuyule* es parecido al de aceite de coco, que es de 248-265 (Apéndice 1), lo que coinciden con el análisis de cromatografía, de gases en el cual se determinó que los dos aceites tienen los mismos ácidos grasos. Al comparar el índice de saponificación con los de otros aceites vegetales como el de maíz (186-196), girasol (186-198) y soya (188-195), se observa que los valores son más bajos en los demás aceites: lo que indica que dichos aceites tienen ácidos grasos con más de 18 átomos de carbono.

## 5.4.2 CARACTERÍSTICAS DE CALIDAD

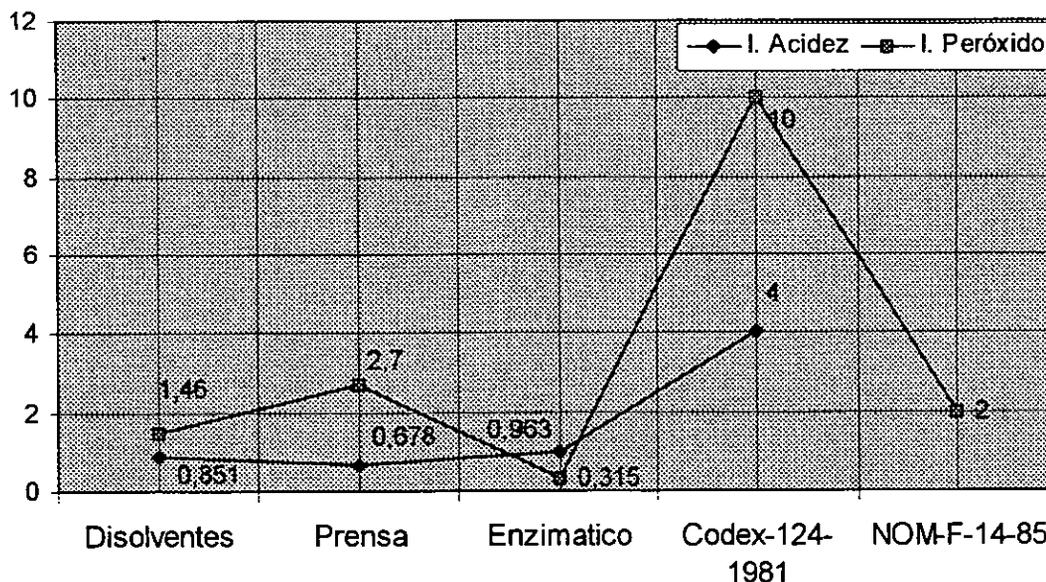
ESPECIFICACIONES	METODOS DE EXTRACCION		
	Disolventes	Prensa	Enzimático
Color	Incoloro Translúcido	Opaco, ligeramente amarillo	Incoloro
Olor	Característico a coco sin olor rancio	Característico a coco sin olor Rancio	Característico a coco, sin olr rancio
Sabor	Característico sin sabores extraños o rancios	Característico sin sabores extraños o rancios	Característico sin sabores extraños o rancios
Índice de Acidez (mg KOH/g de aceite)	2.4 – 2.17	1.82 – 1.99	2.57 – 2.79
Índice de Peróxido (meq / Kg.)	1.37 – 1.53	2.46 – 2.90	0.31 – 0.315
Reacción de Kreiss (Rancidez)	Negativa	Negativa	Negativa
Prueba Caliente sin Olores Desagradables	a 210°C sin olores desagradables ni rancios	A 210°C sin olores desagradables ni rancios	a 210°C sin olores desagradables ni rancios

Tabla No 5.6

**Color:** El color se determinó en el aceite obtenido por los tres métodos, visualmente después de filtrarlo por zelita. No se hizo con colorímetro de Lovibond tal como lo establece la Norma Oficial Mexicana. El aceite obtenido por disolventes es incoloro y translucido; el de prensa fue ligeramente amarillo y el obtenido por método enzimático fue totalmente incoloro y translúcido. La ausencia de color es otra ventaja para el aceite de *Orbignya guacuyule*, ya que durante el refinado uno de los procesos más complicados y costosos es la eliminación del color.

**Sabor y Olor.** El aceite de *Orbignya guacuyule* tuvo un olor y sabor agradables, ligeramente a coco. La determinación de olor también se hizo a 210°C para detectar sabores desagradables o rancios, tal como lo establece la Norma Oficial Mexicana y ninguno de los tres aceites tuvo olores desagradables o rancios; esto se confirma con la prueba de rancidez que resultó negativa en los tres aceites.

### Características de calidad en aceite de Orbignya y normas oficiales de aceite de Coco



Indice de Acidez=mg KOH/g de aceite    Índice de peroxido= meq/Kg de aceite

Gráfica No.5.11

En la gráfica No.5.11, se muestran los valores obtenidos en índice de acidez y peróxido, en el aceite obtenido por los tres métodos y son importante, debido a que determinan la calidad del aceite. Se encontró que en aceite obtenido por método enzimático, el índice de acidez fue mayor (0.963), esto se debe a que es un método de extracción húmedo y temperatura, ligeramente alta, por lo que se favorece la rancidez hidrolítica y se producen ácidos grasos libres. En el aceite obtenido por disolventes también se obtuvo un valor alto, esto puede deberse al calentamiento que sufre la muestra y en el de prensa se obtuvo el valor más bajo, debido a que solo se prensa la semilla y los ácidos grasos libres pueden ser los que generalmente se encuentran en el fruto.

En el índice de peróxido ocurre lo contrario ya que se obtuvo el valor más alto en aceite por prensa, lo que es posible que se deba a que, el aceite está más expuesto al ambiente, en donde hay oxígeno y luz y probablemente se desencadenen reacciones de oxidación de lípidos. El valor más bajo fue el enzimático y en el de disolventes se obtuvo un valor

intermedio. Al comparar los resultados con las especificaciones de la Norma Oficial Mexicana (apendice I), la mayoría de los valores se encuentran dentro a pesar de que se estableció para aceite refinado y el aceite en estudio es virgen; por lo que respecta a las especificaciones del Codex Alimentarius (apéndice I), que es para aceite virgen, el aceite de Orbignya esta muy por abajo de los límites. Por tanto, si el aceite virgen es de buena calidad, al refinarlo se puede obtener un aceite de excelente calidad. En este caso es posible que la presencia de tocoferoles y tocotrienoles que son antioxidantes naturales pudieran ayudar a que el aceite sea más estables, aunque no se hicieron pruebas para determinar estos antioxidantes.

**Rancidez:** Esta es una prueba cualitativa y empírica, para determinar rancidez en el aceite. Esta prueba se determinó en aceite obtenido por los tres métodos de extracción y resultó negativa para cada uno, por lo que se puede decir que ninguno estaba rancio, lo que confirma los resultados antes mencionados.

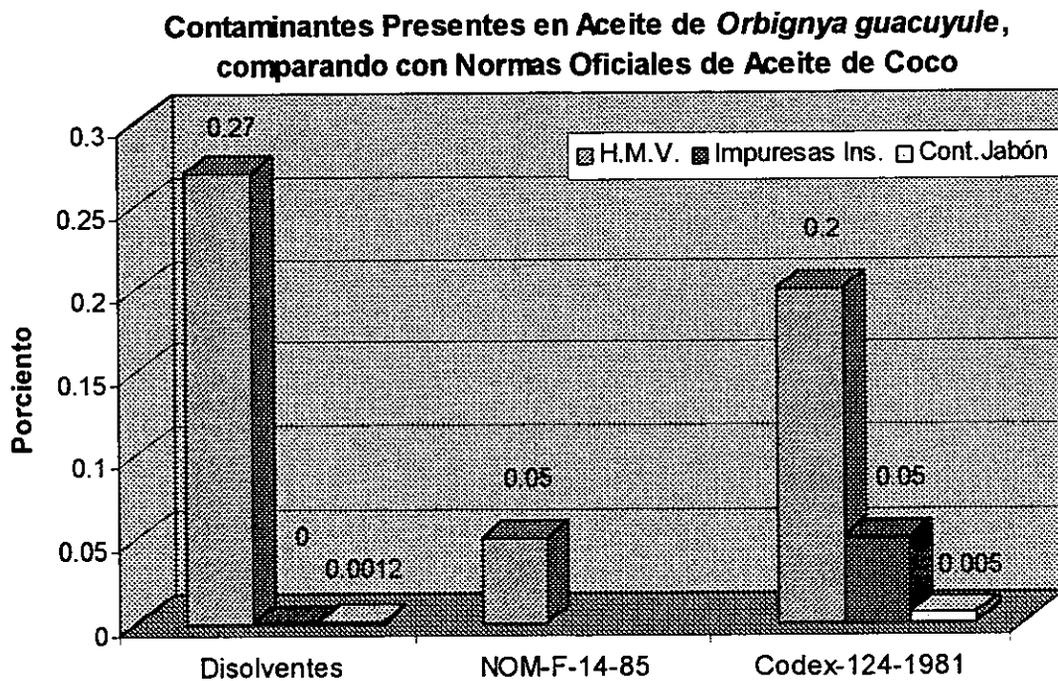
#### 5.4.3. PRESENCIA DE CONTAMINANTES

ESPECIFICACIONES	METODOS DE EXTRACCION		
	Disolventes	Prensa	Enzimatico
Humedad y materia volátil 130°C (%)	0.21 - 0.33	0.54 - 0.39	0.01.- 0.016
Impurezas Insolubles (%)	0	0	0
Contenido de Jabón (%)	0.001216	-----	-----

Tabla No 5.7

La humedad y materia volátil se refiere al contenido de agua y residuos de disolventes que pueda tener el aceite después de extraerlo y es importante, ya que la humedad favorece la rancidez y la presencia de disolvente puede ser tóxico. En el aceite obtenido por prensa, se obtuvo el valor más alto (Tabla no. 5.7), lo que confirma que por este método el aceite es más impuro: En el aceite obtenido por disolventes, el valor fue ligeramente alto lo que puede deberse a la presencia de

residuos de disolvente y el aceite por método enzimático tuvo el valor más bajo. Una de las ventajas en el método enzimático, en que no hay residuos tóxicos, debido a que solo se utilizan enzimas. En ninguno de los tres aceites se detectaron impurezas insolubles ya que el aceite obtenido por disolventes y por prensa se filtró a través de celita y el del método enzimático se secó con sulfato de sodio para eliminar humedad. El contenido de jabón solo se determinó en el aceite obtenido por disolventes para poder compararlo con las especificaciones de la Norma Oficial Mexicana y el Codex Alimentarius.



Gráfica No 5.13

En la grafica No 5.13 se muestra los valores de contaminantes en aceite de *Orbignya guacuyule*, comparando con la Norma Oficial Mexicana (aceite refinado) y el Codex Alimentarius para aceite de Coco (*Cococs nucifera*). El valor de humedad y materia volátil que se detectó en el aceite obtenido por disolventes, resultó mayor, que el

establecido en el Codex Alimentarius, lo que indica que la muestra contenía residuos de disolvente que no fue eliminado totalmente durante la evaporación a baja temperatura. Por otra parte el contenido de impurezas insolubles y contenido de jabón están muy por debajo de los valores máximos establecidos en el Codex Alimentarius para aceite de coco sin refinar.

### **5.5 IDENTIFICACIÓN DE LOS ACIDOS GRASOS CONSTITUYENTES DEL ACEITE DE *Orbignya guacuyule* POR CROMATOGRAFIA DE GASES**

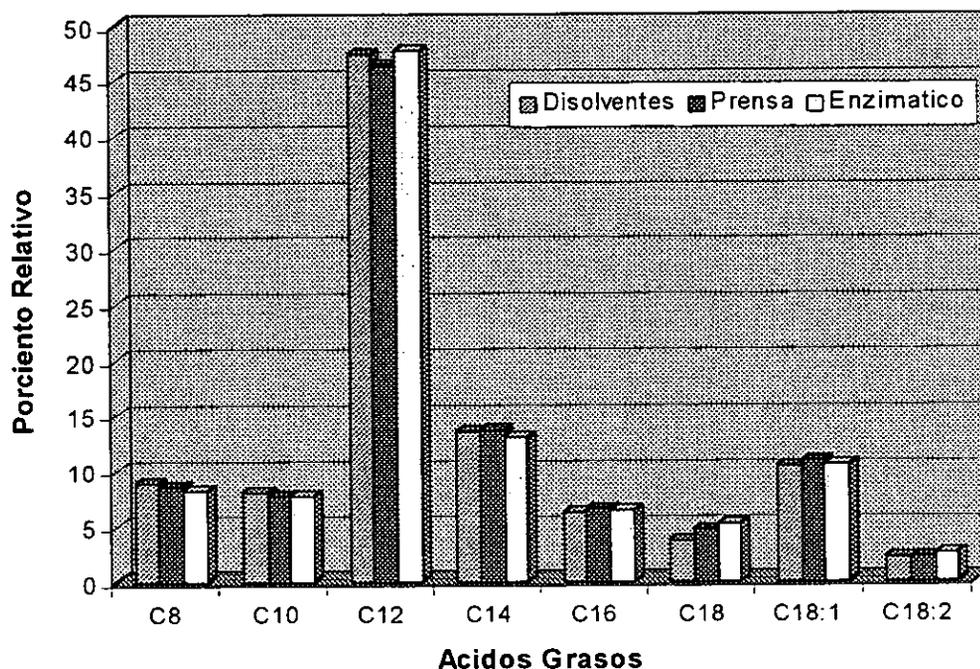
Para determinar los ácidos grasos que constituyen al aceite de *Orbignya guacuyule* se preparó una mezcla de estándares de ácidos grasos y se formaron los ésteres metílicos correspondientes. En la figura No.5.1 se muestra el cromatograma en donde se identificó el tiempo de retención de los ésteres: caprilato de metilo, caprato de metilo, laurato de metilo, miristato de metilo, palmitato de metilo, margarato de metilo, estearato de metilo, oleato de metilo, linoleato de metilo y linolenato de metilo. En los cromatogramas de las figuras 5.2, 5.3 y 5.4 se muestra el análisis del aceite obtenido por los diferentes métodos de extracción: prensa, disolventes y enzimático respectivamente y de acuerdo al tiempo de retención de los ésteres metílicos en la mezcla de estándares, se identificaron los siguientes ácidos grasos: ácido caprílico, cáprico, láurico, mirístico, palmítico, esteárico, oléico y linoléico, siendo estos ácidos los mismos que se encuentran en el aceite de coco (*Cocos nucifera*), únicamente varía su proporción (figura 5.5). Se realizó un análisis estadístico con los datos obtenidos para cada método de extracción y se determinó que no hay diferencia significativa entre los valores obtenidos por cada método de extracción (Apéndice II), por lo que se puede decir que el método de extracción no afecta la composición de los ácidos grasos (Gráfica No 5.14). La cuantificación se hizo por normalización de áreas, considerando que el área de cada pico es proporcional a la concentración. Se encontró que el aceite de *Orbignya*

*guacuyule* tiene el doble de ácido linoléico y es aproximadamente cinco veces mayor la concentración de ácido linoléico, por lo tanto el aceite de *Orbignya guacuyule* tiene más ácidos insaturados que el aceite de coco y nutricionalmente se puede considerar que es mejor.

### 5.5 1 Porcentaje relativo de ácidos grasos en aceite de *Orbignya guacuyule*

ACIDOS GRASOS	Met. Disolventes (%)	Met. Prensa (%)	Met. Enzimatico (%)
Ac. Caprílico C8	8.26-9.37	7.82 – 9.05	7.597 – 8.60
Ac. Cáprico C10	7.65 – 8.39	7.64 – 7.73	7.10 – 8.60
Ac. Laurico C12	45.96 – 48.90	45.65 – 46.96	46.76 – 48.47
Ac. Mirístico C14	13.21 – 13.70	13.26 – 13.96	12.71 – 13.34
Ac. Palmítico C16	5.80 – 6.59	6.12 – 6.84	6.11 – 6.47
Ac. Estearico C18	2.977 – 4.36	4.18 – 5.18	3.74 – 6.60
Ac. Oléico C18:1	9.56 – 11.25	10.21 – 11.39	10.40 – 10.59
Ac. Linoléico C18:2	1.96 – 2.16	1.94 – 2.31	1.99 – 2.90

Tabla No 5.8

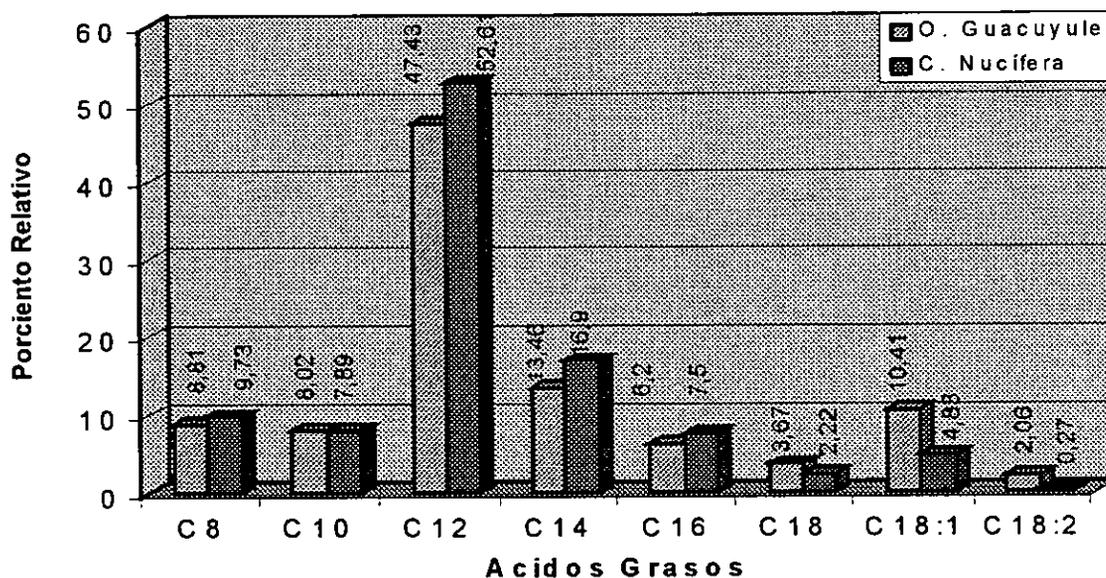


Gráfica 5.14

Composición de Acidos Grasos en aceite de *Orbignya guacuyule*, comparando con normas oficiales para aceite de coco (*Cocos nucifera*).

ACIDOS GRASOS	<i>Orbignya guacuyule</i> (%)	<i>Cocos nucifera</i> (%)	NOM-F-14-1985 (%)	Codex Stan124-1981 (%)
Ac. Caproico	-----	-----	0-0.8	1.2
Ac. Caprílico C8	8.26-9.37	8.32 - 11.14	5.5-9.5	3.4-15
Ac. Cáprico C10	7.65 - 8.44	6.94 - 8.74	4.5-9.5	3.2-15
Ac. Laurico C12	45.96 - 48.90	50.26 - 54.96	44-52	41-56
Ac. Mirístico C14	13.21 - 13.70	16.37 - 17.44	13-19	13-23
Ac. Palmítico C16	5.80 - 6.59	6.84 - 8.17	7.5-10.5	4.2-12
Ac. Estearico C18	2.98 - 4.36	2.07 - 2.37	1.0-3.0	10-4.7
Ac. Oléico C18:1	9.56 - 11.25	4.41 - 5.25	5.0-8.0	3.4-1.2
Ac. Linoléico C18:2	1.96 - 2.16	0.25 - 0.29	1.5-2.5	0.9-3.7

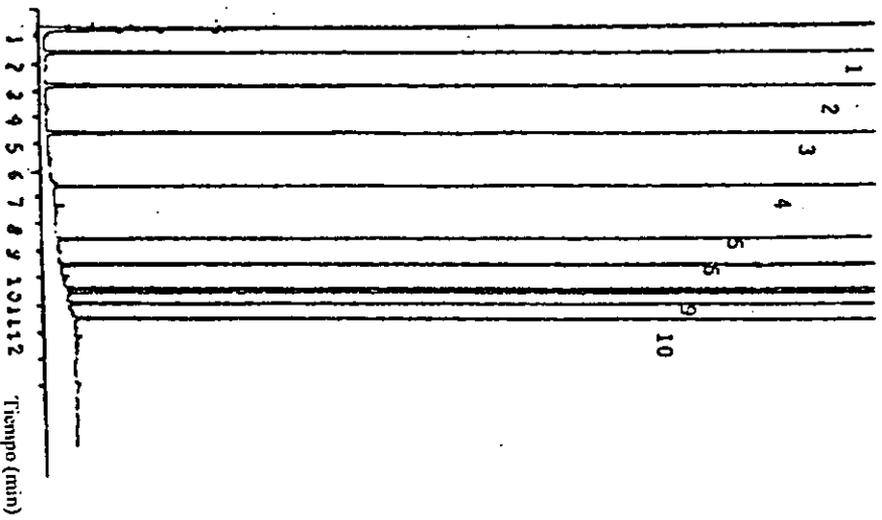
Tabla No 5.9



Gráfica No 5.15

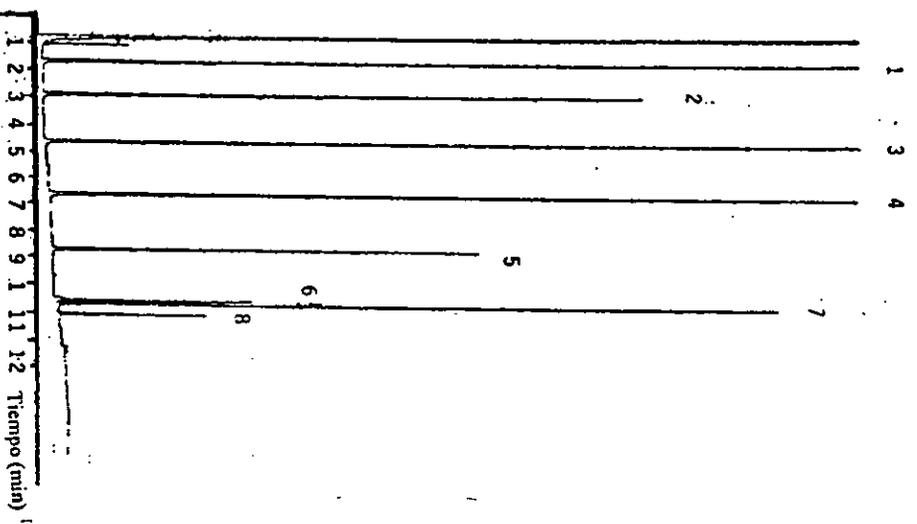
En la Gráfica No. 5.15 se muestra el porcentaje de los ácidos grasos que constituyen al aceite de *Orbignya guacuyule* y al aceite de coco. La concentración de ácidos grasos en el aceite de coco, no está dentro de los parámetros de Codex alimentarius, esto puede deberse a que dicha concentración varía con el clima, lugar de origen y otros factores.

## Mezcla de Estándares



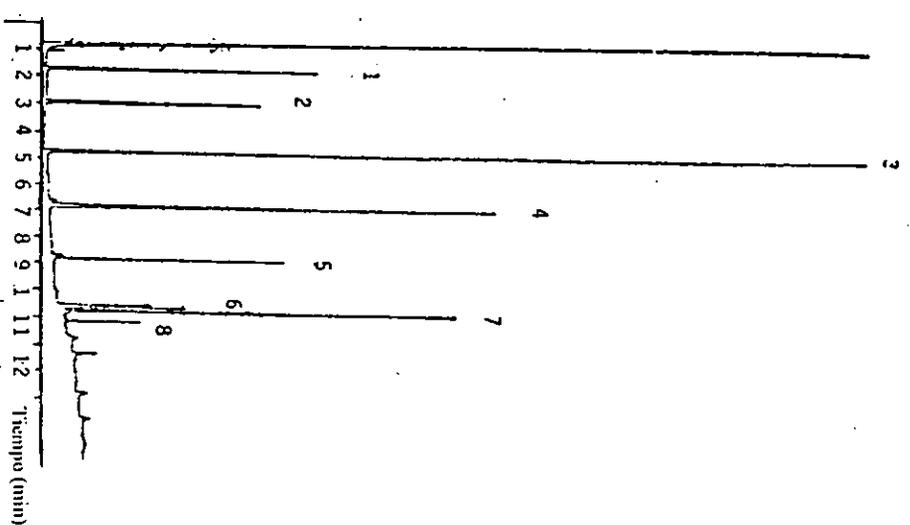
**Figura No 5.1:** 1. Caprilato de metilo, 2. Caprato de metilo. 3. Laurato de metilo, 4. Miristato de metilo, 5. Palmítico de metilo, 6. Margarato de metilo, 7. Estearato de metilo, 8. Oleato de metilo, 9. Linoleato de metilo, 10. Linolenato de metilo.

## Método por Disolventes



**Figura No 5.2:** 1. Caprilato de métilo, 2. Caprato de métilo, 3. Laurato de métilo, 4. Miristato de métilo, 5. Palmítico de métilo, 6. Estearat métilo, de métilo, 7. Oleato de métilo, 8. Linoleato de métilo.

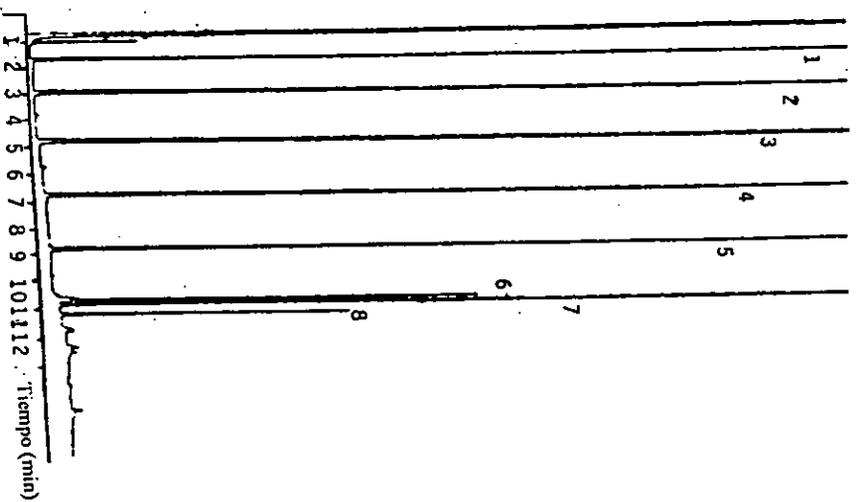
## Método por Prensa



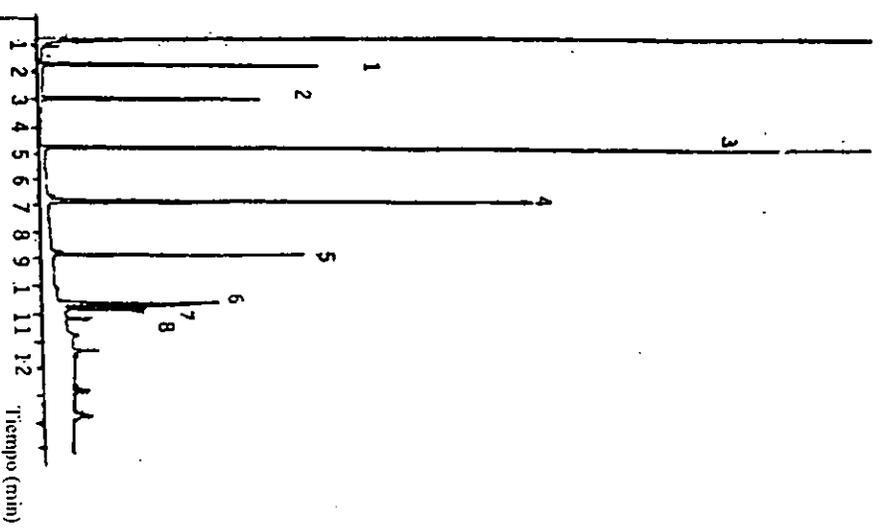
**Figura No 5.3:** 1. Caprilato de métilo, 2. Caprato de métilo, 3. Laurato de metilo, 4. Miristato de métilo, 5. Palmítico de 6. Estearato de metilo, 7. Oleato de metilo, 8. Linoleato de metilo

## Método Enzimático

## Aceite de coco (*Cocos nucifera*)



**Figura No 5.4 :** 1. Caprilato de metilo, 2. Caprato de metilo, 3. Laurato de metilo, 4. Miristato de metilo, 5. Palmiurato de metilo, 6. Estearato de metilo, 7. Oleato de metilo, 8. Linoleato de metilo.



**Figura No 5.5:** 1. Caprilato de metilo, 2. Caprato de metilo, 3. Laurato de metilo, 4. Miristato de metilo, 5. Palmiurato de metilo, 6. Estearato de metilo, 7. Oleato de metilo, 8. Linoleato de metilo

## 5.6 PORCIENTO DE SÓLIDOS EN ACEITE DE *Orbignya guacuyule* (RMN)

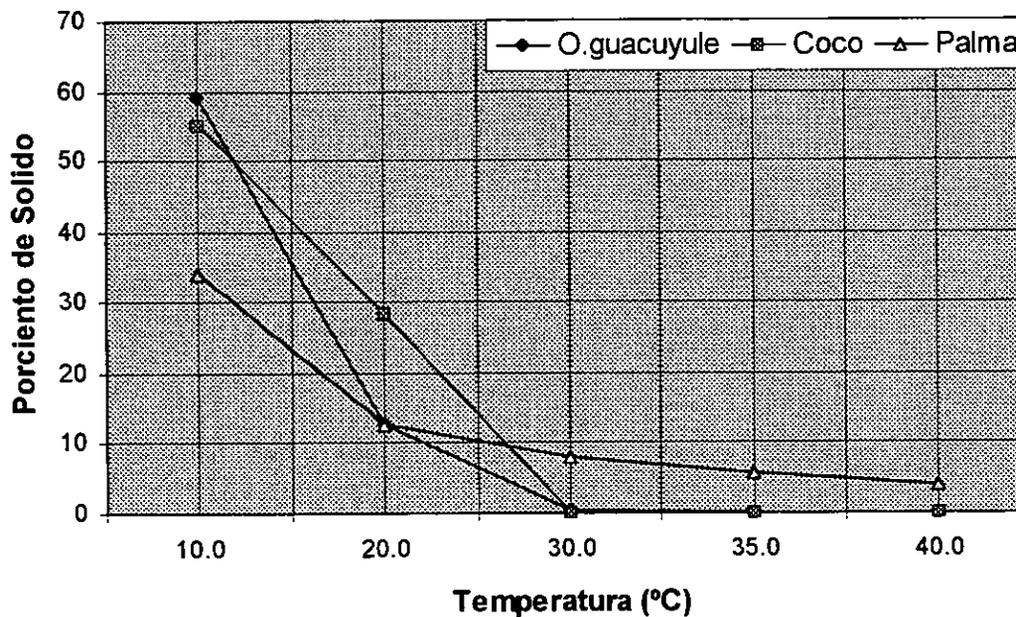
Se determinó el porcentaje de sólidos (Nt), en aceite de *Orbignya guacuyule* por resonancia magnética nuclear, encontrándose que a 10 °C tiene 58.9 % y a 20 °C 12,7 % de sólidos (Tabla No.5.10), es decir hay un descenso rápido en la curva, lo que nos indica que la muestra se vuelve líquida al elevarse relativamente poco la temperatura. Así, que a 10 °C su consistencia es dura y a 20 °C es casi líquida, ya que esta temperatura está cerca del final de su punto de fusión (ver tabla 5.10); por lo tanto a temperatura ambiente, aproximadamente 25 °C, es líquida. El aceite de coco a 20 °C tiene 38.35 %, por lo que su punto de fusión es más alto que el aceite de *Orbignya guacuyule*; sin embargo, a 30 °C es totalmente líquido, ya que tiene 0 % de sólidos. El aceite de palma a 20 °C tiene 12.6 % de sólidos y a 35 °C aún tiene 5.74 % de sólidos por tal razón su punto de fusión es muy alto y debido a que a 40 °C tiene 3.8 % de sólidos, al probar dicha grasa, permanece el sabor de grasa en la boca. En la elaboración de chocolate es necesario que la grasa tenga un porcentaje de sólidos alto a 25 °C y punto de fusión menor de 37 °C. Esta propiedad hace que el chocolate sea duro y quebradizo. Debido a que no existe una grasa que tenga dichas características aparte de la manteca de cacao, es necesario modificar algunas, a través de varios procesos y el aceite de *Orbignya guacuyule* puede ser una buena materia prima en la elaboración de grasas para confitería.

La determinación de porcentaje de sólidos del aceite de *orbignya guacuyule* se hizo por resonancia magnética nuclear, pero los valores de aceite de coco y de palma se tomaron de la bibliografía, en la que reporta los datos obtenidos por dilatometría<sup>2</sup>

**PORCIENTO DE SÓLIDOS EN ACEITE DE *Orbignia guacuyule*, COCO Y PALMA**

Temperatura (°C)	Aceites Vegetales		
	<i>O. guacuyule</i> (%)	<i>C. nucifera</i> (%)	Palma (%)
10	58.9	55	34
20	12.7	38.35	12.6
30	0.30	0	7.95
35	0.12	0	5.74
40	0.00	0	3.8
Punto Fusión(°C)	20	26	39.5

Tabla No 5.10



Gráfica No 5.16

## 5.7 PRUEBA DE ESTABILIDAD (Método del Oxígeno Activo)

### Estabilidad en Horas ( Rancimat a 100° C )

Aceite	Estabilidad AOM (Método del oxígeno activo)
<i>Orbignya guacuyule</i>	80 Horas
Coco (NOM-F-14-1985)	80 Horas

Tabla No. 5.11

La estabilidad del aceite se determinó por el método del oxígeno activo (AOM), se obtuvo el número de horas necesarias para que el aceite tenga un índice de peróxido de 100 meq/kg a 100 °C. La Norma Oficial Mexicana establece que el aceite de coco refinado debe tener un mínimo de 80 horas. Sin embargo el aceite de *Orbignya guacuyule* tiene 80 horas y se trata de un aceite virgen; por lo tanto, este aceite tiene buena estabilidad a la oxidación, superior a la de algunos aceite comerciales aún siendo un aceite sin desodorizar.

Las determinaciones del porcentaje de sólidos y estabilidad del aceite de *Orbignya guacuyule* fueron realizadas por la Empresa "Aceites y Grasas Hidrogenadas Santa Lucia," de Morelia Michoacán.

## CAPITULO 6

### CONCLUSIONES

1.- Se hizo el análisis proximal del fruto de la palma *Orbignya guacuyule*, encontrándose que su principal componente es grasa, con un 72.9 %. El contenido de humedad es de 3.14 %, lo que facilita la extracción del aceite, ya que no es necesario un proceso de secado. La proteína está presente en 6.23 %, que en residuo de extracción puede alcanzar hasta un 23 %, lo que lo hace una buena fuente de proteína.

2.- La extracción del aceite se llevó a cabo por tres métodos diferentes: disolventes, enzimático y por prensa, encontrándose que el método de mayor eficiencia es el de disolventes (100 % de eficiencia). Sin embargo, el aceite que se obtuvo con mejor calidad es el extraído por el método enzimático.

3.- Se realizaron pruebas de identidad y calidad al aceite obtenido por cada método de extracción. En lo que se refiere a características de calidad, hubo diferencias, ya que se encontró un alto contenido de ácidos grasos libres tanto en el aceite obtenido por el método enzimático, como por disolventes, mientras que en el de prensa este fue bajo. En contenido de peróxidos fue mayor en el aceite obtenido por el método de prensa que en los otros dos. Para las demás pruebas las diferencias en los métodos fueron mínimas.

4.- Se determinaron los ácidos grasos constituyentes del aceite de *Orbignya guacuyule* por cromatografía de gases capilar, de lo que se obtuvo que los principales ácidos grasos son : ácido laurico con 46 a 49 %, mirístico de 13.2 a 13.7 %, oléico de 9.56 a 11.25 % y caprílico con 8.26 a 9.37 %.

5.- Las características del aceite de *orbignya guacuyule* son parecidas al aceite de coco y de semilla de palma, por lo que los podría sustituir en algunas aplicaciones.

6.- Actualmente el abasto de manteca de cacao para la elaboración de chocolate se ha reducido notablemente, siendo su precio cada vez más elevado, por lo que ha sido necesario elaborar grasas con las mismas características de esta para poder sustituirla en la elaboración de coberturas y sustitutos de chocolate más económicos. La materia prima para las grasas que sustituyen a la manteca de cacao son principalmente; aceite de palma, palmiste y aceite de coco. Debido a que en aceite de *Orbignya* es muy semejante a dichos aceites puede utilizarse para la elaboración de sustitutos de manteca de cacao ya que es incoloro, de bajo punto de fusión y muy estable.

7.- Debido a que el aceite de *orbignya guacuyule* contiene ácidos grasos de cadena corta, puede servir como sustituto de grasa en productos lácteos, por ejemplo en la elaboración de margarinas. Por su alto contenido de ácido laurico se puede utilizar en la elaboración de jabones igual que el aceite de coco y también se puede emplear como aceite para freír, ya que es muy estable y tiene un bajo contenido de ácidos grasos insaturados.

8.-La resistencia al amarillamiento letal que presenta la palma *Orbignya guacuyule*, constituye una ventaja importante de esta especie, lo que hace prometedor el impulsar su cultivo, ya que por ahora, crece de manera silvestre.

# CAPITULO 7

## BIBLIOGRAFIA

- 1 - Anderson Andrew; "The Genus Attales"; Botanical Garden; New York 10485
- 2.- Badui Dergal Salvador, "Química de los alimentos", 3ª edición 1993, Facultad de Química, Ed. Alambra Mexicana, México D.F.
- 3.- Bailey Alton E., "Bailey's Ind.Oil and Fat Prod.", 4ª edición 1982; Vol 2; Ed.Jhon Wiley & Son's; pp. 407-480
- 4.- Balik J. (1982)-"Palmas Neotropicales; nuevas fuentes de aceites comestibles"; Interciencia; Ene-Fe. No 1 Vol 7 Pag 25-29.
- 5.- Banco Nacional de Comercio Exterior, "Importación y Exportación de aceites vegetales", Fracciones arancelarias 150710, 151319 y 151110
- 6.- Barrios V.A.Lopez Munguia (1990), "Optimization of enzymatic process for coconut oil extracction"; Oleagineux, Vol. 45, No1, pp. 35-42.
- 7.-Benavides(1990)- G.A, "Determinación de ácidos grasos en leche en polvo por cromatografía de gases" Facultad de Química; UNAM; México D.F.
- 8.- Bismarck E.(1994), "The Palm Journal" Vol.114, No.1, pp. 48.
- 9.- Braverman J.B.S.; Berk Z.; "Introducción a la bioquímica de los alimentos", 14ª edición, 1980, Ed. El manual moderno S.A. de C.V., México D.F.
- 10.- British Standards Institution Methods, "Determinación del contenido de jabón"; CAC/RM 13-1969
- 11.-Cintra M. O., López-Munguia C.A.(1986), "Coconut oil extraction by new enzymatic process", J.Food Science; Vol. 51 No 3, pp. 695-697.
- 12.- Cintra Nc Glona (1984)-"Desarrollo de un proceso enzimático para la extracción de aceite de coco", Facultad de Química UNAM, México D.F.
- 13.-Codex Stan 124-1981."Norma del codex para el aceite de coco comestible"
- 14.-David Rubio Hernandez, "Desarrollo de un proceso enzimático para la extracción de aceites vegetales", Maestría química de alimento, Facultad de Química , UNAM, 1990, Mexico D.F
- 15.-Egan Harold R., Kirk S. "Análisis químico de los alimentos de Pearson", 1ª edición ,1987; Ed. Compañía editorial continental S.A; México. Pag.64-68.
- 16.- Enciclopedia de Química Industrial: Sección III: "Industria química y sus productos"; dirigida por Dr. Fritz Ullman, Tomo V; Ed. Guinart y Pujolar Barcelona, 1931
- 17.-Fenema O.R., "Food Chemistry", 2ª edición, Ed. Marcel Dekker, New York, 1976

- 18.-Fenema O.R., "Introducción a la ciencia de los alimentos", 1985, Ed. Revertés S.A., Barcelona España.
- 19.-Guajardo L.C.,(1997), "Control y manejo de aceites crudos", Soyanoticias, julio-septiembre
- 20.-Hamilton R.J."Developments in oil and fats", 1<sup>th</sup> Edición 1995, Ed. Blackie Academic & Professional, London Glasgow, N. Y., Tokio
- 21.-Hart L. F., "Análisis moderno de los alimentos", 1<sup>a</sup> edición, 1991, Ed. Acribia, Zaragoza España
- 22.-Hawthorn John, "Fundamentos de ciencia de los alimento", Trad. Lopéz L. P.Ed. Acribia, Zaragoza España, 1983
- 23.-Hayes KC.Pronczuk A.(1991)-"Dietary saturated ffaty acid", (12:0,14:0,16:0) differ in their impac"; Am.J.Clin.Nuttr.; No. 5, pp. 491-498.
- 24.-Heinzen H.M.(1985)-"Gas chomatographic determination of fatty acod compositions" J.Chem.Edu. Vol 62 No 5, pp. 449-450.
- 25.-Hernandez X.E.(1949), "Estudio botánico de las palmas oleaginosas de México" Boletin de la sociedad botánica de México No.9; pag 13-19.
- 26.-INEGI, "Producción anual de frutas y hortalizas", 1995, Mexico D.F.
- 27.-INEGI, "Producción anual de frutas y hortalizas", 1996, Mexico D.F.
- 28.-K.W.Wahle (1990),"Dietary regulation of essential fatty acid";Biochem.Soc.Trans. Vol. 1, pag 775-778
- 29.-Labra Mendoza M.(1979)-"Actualización de la información de coco y sus derivados". UNAM; México D.F.
- 30.-Lleras E.C.(1988)-"Native neotropical", Advances in economic botany; The New York Botanic Garden Vol. 6, pp. 201-203.
- 31.-Loders Croklaan, "Cosas probadas sobre grasas". Alternativas de la manteca de cacao para chocolate compuesto.
- 32.-Martinez Wurts." El papel de la cromatografía de gases en la industria de alimentos" Tecnología de Alimentos; Vol 18, No 4, México, pag 10-13.
- 33.-Método de la British Standards Institution, "Determinación del contenido de jabón", CAC/RM 13-1969
- 34.-Minifie B.W., "Chocolate, Cocoa and Confectionery", 3<sup>th</sup> edition, Ed. Champman and Hall, New York 1989.
- 35.-Miranda F.(1944),"El coyol real de la región de Azueta Veracruz"; An.Inst.Biol.Mex. vol. 15.pag.349-368.

**ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

- 36.-McCoy R.E.HowarF.W."Lethal Yellowing of Palm"; Univ.Florida, Ins.of Food Agric.Sci.
- 37.-Nathan Joseph Pedro "Separaciones cromatograficas";1975, Editorial Anuies.
- 38.-NOM-F-14-1985;"Norma oficial de aceite de coco comestible refinado"
- 39.-NOM-F-75;"Determinación de gravedad específica en aceites y grasas vegetales o animales
- 40.-NON-F-101-1987;"Determinación del índice de acidez en aceites y grasas vegetales o animales
- 41.-NOM-F-152-1981;"Determinación del índice de yodo en aceites y grasas vegetales o animales
- 42.-NOM-F-154-1987;"Determinación de índice de peróxido en alimentos, aceites y grasas vegetales o animales.
- 43.-NOM-F-211-1987;" Determinación de Humedad y materia volátil, en aceites y grasas vegetales o animales.
- 44.-NOM-F-222-1975;" Determinación de rancidez en aceites y grasas vegetales o animales.
- 45.- NOM-F-225-1975; "Determinación de prueba fría en aceites normalesrefinados y crudos de origen vegetal o animal"
- 46.-NOM-F-473-1987;" Determinación sensorial de impurezas indeseables - olor en aceites y grasas vegetales o animales"
- 47.-NOM-F-74-S-1981;"Determinación del Índice de refracción en aceites y grasas vegetales o animales"
- 48.-NOM-F-152-S-1981;"Determinación de los Índices de Reichert Meissl, Polenske y Kirchner en aceites y grasas vegetales o animales"
- 49.-NOM-F-174-S-1981;" Determinación del índice de saponificación en aceites y grasas vegetales o animales"
- 50.-NOM-K-306-1973; " Determinación de materia insaponificable en aceites y grasas vegetales o animales"
- 51.-Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemist (AOAC) 14<sup>th</sup> Ed. Washington D.C. 1984.
- 52.-Pomeranz Y., Meloan E. "Food analysis and practice; 3<sup>th</sup> edición 1994;Ed.Chapman & Hall; USA.
- 53.- Osborne D.R. and Voogt P. "Análisis de los nutrientes de los alimentos", 1978, Ed. Acribia, Zaragoza España 1986
- 54.-Ediciones Madrid, 1988, "Producción análisis y control de calidad en aceites y grasas comestibles"

- 55.-Protter N.N., Hotchkiss H.J., "Food Science" 1<sup>th</sup> Edition 1995, Ed. Chapman & Hall, New York
- 56.-Quero Rico H. "Palmas silvestres de la península Yucatán" 1<sup>a</sup> edición; Publicaciones especiales 10, Primera edición 1992; Jardín Botánico UNAM:
- 57.-Scott Gerald, (1997), "New focus for heart drugs", Chemistry in Britain, vol. 33, Number 3 March, pp. 22
- 58.-Wan J. P., "Introduction to Fats and Oils Technology", American Oil Chemists Society, Champaign Illinois 1994
- 59.-Willard H., Merritt L., Dean A., Settle A., "Instrumental Methods of Analysis", 7<sup>th</sup> edición, 1988, Ed. Wadsworth Publishing Com., Belmont California
- 60.-Ziller Steve y Col. "Grasas y Aceites Alimentarios", 7<sup>a</sup> edición 1994, Ed. Acribia S.A., Zaragoza España

## APENDICE I

**Especificaciones del aceite de *Orbignya guacuyule* Comparando con especificaciones legislativas para aceite de (*Cocos nucifera*).**

### Características de Identidad

ESPECIFICACIONES	Aceite de <i>O. guacuyule</i> Método disolventes	NOM-F-14-1985 Aceite de Coco	Codex Stan 124-1981 Aceite de Coco
Densidad Relativa 25°C g/ml	0.920 (25°C) 0.9104 (40°C)	0.917-0.919 (25°C)	0.908 – 0.921 (40°C)
Índice de Refracción Dt	1.455 -1.456 (25°C) 1.462 (40°C)	1.448-1.450 (25°C)	1.448 – 1.450 8 (40°C)
Índice de saponificación (mgKOH/g aceite)	253.60 – 260.66	251.0-264.0	248 – 265
Índice de Yodo (%)	11.20 - 11.61	7.5-13.0	6 – 11
Materia Insaponificable	0.320 - 0.471 (%)	Máximo 1.0 (%)	No más de 15g/kg
Índice de Reicher-Meissl (ml de NaOH 0.1N/5g de muestra)	4.06-5.35	Máximo 5.0	6 – 8.5
Índice de Polenske(ml de NaOH 0.1N/5g de muestra)	6.99-7.48	Máximo 5.0	13 – 18
Prueba Fría 0°C	Sólido a T ambiente	Sólido a T amb. NEGATIVA	-----

### Características de Calidad

Especificaciones	Aceite de <i>O. guacuyule</i> Método disolventes	NOM-F-14-1985 Aceite de Coco	Codex Stan 124-1981 Aceite de Coco
Color	Translucido	IR 20 <sup>a</sup>	Característico
Olor	Coco, sin olores desagradables	Característico sin olores extraños o rancios	Característico sin olores extraños o rancios
Sabor	Característico sin sabores extraños	Exento de sabores extraños o rancios	Exento de sabores extraños o rancios
Índice de Acidez (mg KOH/g de aceite)	0.857-0.972	Máximo 0.05	Máximo 4.0 (Aceite virgen)
Índice de Peróxido (meq / Kg de aceite.)	1.367-1.528	Máximo 2.0	Máximo 10
Reacción de Kreiss (Rancidez)	Negativa	Negativa	-----
Prueba Caliente sin Olores Desagradables	a 210°C sin olores desagradables ni rancios	a 210°C sin olores desagradables ni rancios	-----

**Presencia de Contaminantes.**

ESPECIFICACIONES	Aceite de <i>O. guacuyule</i> Extraccion con disolventes	NOM-F-14-1985 Aceite de Coco	Codex Stan 124- 1981 Aceite de Coco
Materia Volátil a 10 °C	0.268	Máximo 0.05 %	Máximo 0.2%
Impurezas Insolubles	0	Máximo 0.02%	Máximo 0.05%
Contenido de Jabón	0.001216	-----	Máximo 0.005

## APENDICE II

**Análisis de Varianza para determinar si los métodos de extracción afectan la concentración de ácidos grasos en al aceite de *Orbignya guacuyule* (Disolventes, Prensa y Enzimático)**

**Hipotesis**

$$ACEITE_{DISOLVENTES} = ACEITE_{PRENSA} = ACEITE_{ENZIMATICO}$$

$$ACEITE_{DISOLVENTES} = ACEITE_{PRENSA} = ACEITE_{ENZIMATICO}$$

ACIDOS GRASOS	MÉTODOS DE EXTRACCIÓN			SUMA
	Disolventes	Prensa	Enzimático	
<b>C8</b>	8.806	8.51	8.1	25.416
<b>C10</b>	8.01	7.69	7.81	23.51
<b>C12</b>	47.4	46.4	48.6	142.4
<b>C14</b>	13.45	13.49	13.17	40.11
<b>C16</b>	6.19	6.43	5.98	18.6
<b>C18</b>	3.67	4.80	4.06	12.53
<b>C18:1</b>	10.40	10.90	10.25	31.55
<b>C18:2</b>	2.06	2.03	2.1	6.19
<b>SUMA</b>	99.986	100.25	100.07	300.306

**Suma de Cuadrados**

$$FC = (300.306)^2 / 24 = 3757.56$$

$$SC_{METODOS} = (99.986)^2 + (100.25)^2 + (100.07)^2 / 8 - 3757.56 = 0.0085$$

$$SC_{ACIDOS} = (25.41)^2 + (23.51)^2 + (142.4)^2 \dots\dots\dots / 3 - 3757.56 = 4449.66$$

$$SC_{TOTALES} = (8.806)^2 + (8.51)^2 + \dots\dots\dots (2.03)^2 + (2.1)^2 - 3757.65 = 4453$$

$$SC_{ERROR} = SC_{TOTALES} - SC_{ACIDOS} - SC_{METODOS}$$

$$SC_{ERROR} = 4453 - 4449.66 - 0.00845 = 3.779$$

**Media de Cuadrados**

$$CM_{METODO} = 0.00845 / 2 = 0.00425$$

$$CM_{ACIDOS} = 4449.66 / 7 = 635.66$$

$$CM_{ERROR} = 3.779 / 14 = 0.2699$$

**F calculada**

**$F_{\alpha 0.05} 2/14 = 3.74$  (Tablas)**

$$F_{\text{MÉTODOS}} = 0.00422 / 0.2699 = 0.0156$$

$$F_{\text{ÁCIDOS}} = 635.66 / 0.2699 = 2355.17$$

Fuente de variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Media de Cuadrados	F calculada	F tablas 2/14 $\alpha = 0.05$
Métodos de Extracción	2	0.00845	0.00422	0.0156	3.74
Ácidos Grasos	7	4449.66	635.66	2355.17	
Error	14	3.779	0.2699		
Total	23				

0.0156 es menor que 3.74 por lo tanto no hay diferencia significativa en los métodos de extracción, es decir, las condiciones de extracción no afecta la concentración de los ácidos grasos que constituyen al aceite de *Orbignya guacuyule*.

## APENDICE III

### MÉTODOS OFICIALES DEL AOAC PARA EL ANÁLISIS PROXIMAL

#### Humedad<sup>51</sup> (Pérdida por Secado)

Procedimiento: Pesar 5g de muestra con precisión de 1 mg en un pesafiltros que previamente se puso a peso constante a 100 °C durante 2 horas. La muestra se seco en estufa de vacío a 70 °C, 130 mmHg durante 5 horas, se tapó el pesafiltros, se retiró de la estufa y se enfrió en el desecador, posteriormente, cuando alcanzó la temperatura ambiente se pesó, repitiendo esta operación hasta peso constante

Cálculos

$$\text{Humedad} = \frac{(A - B) \times 100}{M}$$

En donde:

A = peso de pesafiltros más la muestra, B = peso del pesafiltros después de secar en la estufa, M = peso de la muestra en gramos

#### Cenizas<sup>51</sup>

Procedimiento: Pesar 3g de muestra en un crisol que previamente se puso a peso constante en la mufla por 2 horas a 600°C. La muestra se carbonizó en una parrilla eléctrica hasta que no desprendió humos, posteriormente se calcinó en la mufla cuidando que la temperatura no pasara de 550°C. Después de 3 horas se suspendió el calentamiento (si se observan puntos negros se humedecen con unas gotas de agua destilada y se vuelve a calcinar), se enfrió el crisol en desecador y se pesó. Se repitió este procedimiento hasta peso constante.

CALCULOS:

$$\text{Cenizas (\%)} = \frac{(\text{Peso crisol con cenizas} - \text{Peso crisol vacío}) \times 100}{\text{Gramos de muestra}}$$

### **Proteína Cruda<sup>51</sup> (Método de Kjeldahl)**

Procedimiento: Se pesó 1 g de muestra en papel delgado blanco y se colocó en un matraz Kjeldahl, se agregaron 0.3 g de sulfato de cobre, 5 g de sulfato de potasio, 15 ml de ácido sulfúrico concentrado y piedras de ebullición. El matraz se puso en el digestor del aparato Kjeldahl y se calentó hasta que la solución quedó completamente cristalina, se enfrió, se diluyó con 350 ml de agua destilada y se enfrió nuevamente sobre hielo. Se adicionaron 40 ml de la solución concentrada de NaOH que también se enfrió sobre hielo haciéndola resbalar lentamente por las paredes del matraz, (para evitar el desprendimiento de amoníaco no se debe agitar), se adicionaron 0.2 g de zinc y se conectó a la trampa de Kjeldahl, unida al refrigerante que está conectado a una alargadera la cual está dentro de un matraz erlenmeyer de 500 ml que contenía 50 ml de HCl 0.1N y 5 gotas de indicador rojo de metilo. Una vez conectado el matraz, se agitó para mezclar las dos capas e inmediatamente se puso en la parrilla del destilador y se calentó hasta destilar un volumen de 250 ml aproximadamente, posteriormente se tituló el exceso de ácido en el destilado con solución valorada de NaOH 0.1N, hasta vire amarillo. Se realizó un blanco, siguiendo el mismo procedimiento pero sin la muestra

#### **CALCULOS**

$$\% \text{ Nitrógeno} = \frac{\text{ml del blanco} - \text{ml de la muestra} \times N(\text{NaOH}) \times 0.014 \times 100}{\text{Gramos de muestra}}$$

$$\text{Miliequivalentes de Nitrógeno} = 0.014. \quad \text{Factor de Conversión para Coco} = 5.3$$

$$\text{Proteína Cruda (\%)} = \% \text{ de Nitrógeno} \times 5.3$$

### **Fibra Cruda<sup>51</sup>**

Procedimiento: Se pesaron 2 g de muestra seca en un vaso digestor, se adicionó 1g de asbesto preparado y 200 ml de ácido sulfúrico 0.255N, se calentó inmediatamente de tal

manera que empezara a hervir antes de 1 min y se dejó en reflujo durante 30 min, rotando el vaso de vez en cuando para reincorporar las partículas que se pegaban en las paredes del vaso. Posteriormente se filtró en un embudo Büchner y se lavó con 4 porciones de 50 ml de agua caliente, hasta que no dio reacción ácida con rojo de metilo. El residuo que quedó en el papel se pasó, con una espátula, al vaso digestor limpio y se repitió la operación utilizando 200 ml de NaOH 0.313N, nuevamente se mantuvo el reflujo durante 30 min, se filtró en el mismo papel filtro y se hicieron los lavados con 25 ml de ácido sulfúrico 0.255N y tres porciones de 50 ml de agua caliente, comprobando que el residuo no diera reacción alcalina con rojo de metilo. Se pasó cuantitativamente el residuo del filtrado a un vaso de precipitados, se lavó con agua y se filtró a través de un crisol gooch con una capa delgada de asbesto, que previamente se calcinó durante 1 hora a 600°C. El crisol gooch se metió a la estufa y se mantuvo a 130 °C + 2 °C durante 2 h, se enfrió y pesó. Posteriormente se calcinó en la mufla a 600°C durante 30 min, se enfrió y pesó nuevamente hasta peso constante

## CALCULOS

$$\text{Fibra Cruda (\%)} = (A - B) \times 100 / M$$

En donde:

A = peso del gooch después de 2h a 130°C, B = peso del gooch después de calcinar 30 min a 600°C y M = peso de la muestra original en gramos.

## **Grasa Cruda o Extracto Etéreo (Método de Soxhlet)<sup>51</sup>**

Procedimiento: Se puso a peso constante el matraz con las piedras de ebullición, a 100 °C, durante 2 h. Se pesó 2 g de muestra en un cartucho de celulosa, se tapó con algodón y se metió al extractor de Soxhlet. Se conectó el matraz al extractor y el refrigerante sin poner grasa en las juntas. Se agregó éter etílico J. T. Baker reactivo analítico y se calentó el

matraz en la parrilla, hasta extraer la grasa totalmente (aproximadamente 16h), después de este tiempo se sacó el cartucho del extractor y se siguió calentando para recuperar el éter. El exceso de éter en el matraz se evaporó totalmente en una parrilla, bajo la campana, se metió a la estufa durante 30 min, se enfrió en y se pesó varias veces a intervalos de 30 min hasta tener un peso constante.

## CALCULOS

$$\text{Grasa Cruda (\%)} = \frac{(\text{Peso matraz con extracto} - \text{Peso matraz vacío}) \times 100}{\text{Peso de la muestra (g)}}$$

### **Carbohidratos Asimilables (Por diferencia)**

$$\text{Carbohidratos asimilables (\%)} = 100 - \% (\text{humedad} + \text{cenizas} + \text{grasa} \\ \text{proteínas} + \text{fibra})$$

$$\text{Carbohidratos Totales (\%)} = 100 - \% (\text{Humedad} + \text{Cenizas} + \text{proteínas} + \text{grasa})$$

## **METODOS FISICOQUÍMICOS PARA EL ANÁLISIS DE ACEITES, TOMADOS DE LA NORMA OFICIAL MÉXICANA**

### **Características de Identidad**

#### **Densidad ó Gravedad Especifica (Picnómetro)<sup>39</sup>**

Procedimiento: Se pesó el picnómetro limpio y seco (previamente lavado con etanol y éter etílico), posteriormente se llenó con agua destilada evitando la formación de burbujas de aire y se puso destapado en un baño de agua a 25 °C + 0.2 °C durante 30 min. Controlando la temperatura del baño con el termómetro, una vez alcanzada temperatura, se llenó completamente con agua destilada a la misma temperatura y se tapó, se sacó del baño, se

secó perfectamente y se pesó. Se vació el picnómetro y se lavó nuevamente con etanol y éter etílico, se llenó el picnómetro con la muestra homogeneizada, evitando la formación de burbujas de aire, se puso en el baño de agua repitiendo el mismo procedimiento.

#### EXPRESIÓN DE RESULTADOS

$$G1 = M1 - M \quad G2 = M2 - M \quad \text{Densidad} = G1 / G2$$

En donde:

M1 = Masa del picnómetro con muestra, M2 = Masa del picnómetro con agua

M = Masa del picnómetro vacío, G1 = Masa neta del aceite y G2 = Masa neta del agua

#### **Punto de Fusión (Método Capilar)<sup>51</sup>**

Procedimiento: Se calentó el aceite a 25 °C y se metió en un tubo capilar de 2 mm de diámetro abierto por ambos extremos, usando la cantidad necesaria para ocupar aproximadamente 1 cm de longitud en el tubo. Se mantuvo la muestra dentro del tubo en el congelador por 24 h. Después de este tiempo el capilar se adhirió a un termómetro con una liga, haciendo coincidir el fondo de la muestra con el fondo del bulbo del termómetro, se metió en un tubo de ensayo cubierto con el tapón horadado y posteriormente el tubo se metió al baño maria y se calentó lentamente de tal manera que la temperatura subiera a una velocidad 1°C/min.

El punto de fusión empieza cuando se forma un halo refringente en la muestra y termina cuando se ve claramente a través de la muestra, el bulbo del termómetro. Se reportaron ambos datos como punto de fusión (intervalo).

### **Índice de Refracción (Por Refractómetro de Abbe)<sup>47</sup>**

Procedimiento: En primer lugar se calibró el refractómetro. Después de calibrarlo se ajustó la circulación de agua, para que los prismas tuvieran una la temperatura de 25°C. Se colocaron dos gotas de la muestra filtrada y seca en el refractómetro, se ajustó la luz de manera que entrara en el aparato; se enfocó el ocular sobre las líneas transversales cruzadas y sobre los lentes de la escala, ajusto hasta apareciera una línea fina de separación perfectamente definida y se tomó la lectura del Índice de refracción en la escala hasta la cuarta cifra decimal.

### **EXPRESIÓN DE RESULTADOS**

Se hace el promedio de las lecturas efectuadas en el refractómetro buscando repetibilidad

### **Índice de Reichert-Meissl<sup>48</sup>**

Procedimiento: Se pesaron 5 g de muestra en un matraz de destilación de 250 ml, se agregaron 20 ml de sosa glicerizada y se calentó hasta saponificación completa (muestra completamente clara), posteriormente se agregaron 135 ml de agua destilada, recién hervida, primero gota a gota para evitar formación de espuma, 6 ml de ácido sulfúrico diluido y piedras de ebullición y se destiló, sin previa fusión de los ácidos grasos, hasta obtener 110 ml en un tiempo aproximado de 30 min, después, se sustituyó el matraz receptor por una probeta de 25 ml para recoger las gotas que cayeron después, posteriormente el destilado se mezcló con agitación suave y se sumergió en agua a 15 °C durante 15 min, se filtró con papel de poro cerrado y se titularon 100 ml del filtrado con hidróxido de sodio 0.01N, empleando 0.5 ml de solución de fenolftaleína como indicado

hasta vire color rosa. Se hizo una determinación en blanco siguiendo el mismo procedimiento pero sin muestra.

#### EXPRESIÓN DE RESULTADOS

Índice de Reichert-Meissl  $= (V1 - V2) \times 1.1$

En donde:

V1 = mililitros de solución de NaOH 0.1N empleados en la valoración de los ácidos grasos volátiles y V2 = mililitros de solución de NaOH 0.1N empleados en el blanco.

#### Índice de Polenske<sup>48</sup>

Procedimiento: Es la continuación del índice Reichert-Meissl. Los residuos del filtrado que quedaron en el papel filtró se lavan con tres porciones de 15 ml de agua destilada, con las que previamente se lavó el refrigerante, la probeta de 25 ml y el matraz colector, esta agua se tira. Los ácidos insolubles retenidos en el papel filtro se disuelven, lavándolos sucesivamente con tres porciones de 15 ml de alcohol etílico neutralizado, con los que previamente se lavó el refrigerante, la probeta y el colector, se juntaron los tres lavados y se tituló con hidróxido de sodio 0.01N hasta vire rosa. También se hace un blanco.

#### EXPRESIÓN DE RESULTADOS

Índice de Polenske = A - B

En donde:

A = ml de NaOH 0.1N empleados en la titulación de la muestra

B = ml de NaOH 0.1N empleados en la titulación del blanco

### **Índice de Yodo (Método de Hanus) <sup>39</sup>**

Procedimiento: Se pesaron 0.25 g de aceite en un matraz de yodo de 250 ml, se disolvió con 10 ml de cloroformo y se agregaron 25 ml de reactivo de Hanus con pipeta volumétrica y se dejó en reposo durante 30 min exactamente, agitando ocasionalmente. Después de este tiempo se agregaron 10 ml de yoduro de potasio al 15 %, se agitó y se adicionaron 100 ml de agua destilada recién hervida y fría; con esta misma se lavó el tapón del matraz y posteriormente se tituló con tiosulfato de sodio 0.1N adicionándolo gradualmente, hasta que el color amarillo casi desapareció, se tapó el matraz y se agitó vigorosamente para que el yodo remanente en el cloroformo pudiera reaccionar. Se agregó 1 ml de almidón al 1% y se continuó la titulación hasta que el color azul desapareció. Se hizo un blanco siguiendo el mismo procedimiento pero sin la muestra.

### **CALCULOS**

$$\text{Índice de Yodo} = \frac{(A - B) \times N \times 0.1269 \times 100}{\text{g de muestra}}$$

En donde:

A = mililitros gastados en el blanco, B = mililitros gastados en la muestra, N = Normalidad del tiosulfato de sodio, 0.1269 = miliequivalentes de yodo.

### **Materia insaponificable<sup>50</sup>**

Procedimiento: Se pesaron 5 g de muestra en un matraz con boca esmerilada, se agregaron 30 ml de alcohol etílico neutro y 5 ml de solución de KOH al 50 %; se conectó el refrigerante y se calentó suavemente con reflujo durante 60 min hasta completar la saponificación, posteriormente, se paso la muestra a un embudo de separación de 250 ml y se lavó con 40 ml de alcohol, se adicionó agua caliente y después agua fría hasta obtener un

volumen de 80 ml, se enjuagó el matraz con éter de petróleo y se vació al embudo de separación, se adicionaron 50 ml más de éter de petróleo, se agitó vigorosamente durante 1 min y se dejó en reposo hasta que las dos fases se separaron completamente. Se eliminó la fase acuosa cuidando de no eliminar nada de la fase orgánica, posteriormente se adicionaron 5 ml de alcohol etílico (1:9) para evitar una posible pérdida de éter de petróleo, se agregaron 40 ml de éter de petróleo y se agitó vigorosamente. Se repitió la extracción 6 veces usando cantidades de 40 ml de éter de petróleo. Después de las 6 extracciones, se lavó el extracto de éter de petróleo con 25 ml de alcohol etílico (1:9) las veces necesarias para que fuera neutro a la fenolftaleína, eliminando la capa de alcohol después de cada lavado. Se pasó el extracto etéreo a un vaso puesto previamente a peso constante y se evaporó el éter en baño maria y se secó en la estufa a 105 °C, se enfrió y se pesó, hasta peso constante. Una vez pesado el residuo, se disolvió en 50 ml de alcohol etílico neutro caliente (aproximadamente 50°C), se adicionó 1 ml de solución de fenolftaleína y se tituló caliente con solución de NaOH 0.02N.

#### EXPRESIÓN DE RESULTADOS

$$\text{Materia Insaponificable (\%)} = (G1 - G2 / G) \times 100 \quad G2 = V N \times 0.200$$

En donde:

G2 = gramos de ácidos grasos en el extracto, G1 = peso del residuo (g), G = peso de la muestra empleada (g), V = ml de NaOH empleados en la titulación de los ácidos grasos, N = Normalidad de la solución de NaOH.

#### Índice de Saponificación<sup>49</sup>

Procedimiento: Se pesaron 5 g de aceite, en un matraz de boca esmerilada de 250 ml, se agregaron 50 ml de hidróxido de potasio en solución alcohólica medidos exactamente con

pipeta volumétrica. Se conectó el refrigerante y se calentó suavemente hasta la saponificación completa (30 min), posteriormente se enfrió y se tituló con HCl 0.5N utilizando fenolftaleína 1 % como indicador, hasta la completa desaparición del color rosa y aparición del color del aceite. Se determinó un blanco al mismo tiempo que la muestra usando la misma pipeta utilizada para medir la solución de potasa y drenando el mismo tiempo.

#### EXPRESIÓN DE RESULTADOS

$$\text{Índice de Saponificación} = \frac{(\text{ml HCl 0.5N blanco} - \text{ml HCl 0.5N la muestra}) \times 28.05}{\text{gramos de muestra}}$$

En donde:

28.05 = mg de KOH equivalente a 1 ml de HCl 0.5N.

#### **Prueba Fría** <sup>45</sup>

Procedimiento: Se pesaron 30 g de muestra en un matraz erlenmeyer de 35 ml y se calentó en parrilla eléctrica, agitando constantemente durante el calentamiento, hasta alcanzar una temperatura de 130 °C, se retiró de la parrilla. Se tapó el matraz con un tapón de corcho perfectamente ajustado, se metió en baño de agua a 25°C e inmediatamente se selló el tapón con parafina. Se sumergió completamente el matraz en un baño de hielo a 0°C, se agregó sal común al baño, manteniendo la muestra en el baño hasta observar turbidez, para observarla se sacó del baño, regresándola lo más pronto posible para evitar variaciones en la temperatura.

#### EXPRESIÓN DE RESULTADOS

Se expresa en tiempo necesario para que la muestra se volviera sólida.

## **Características de Calidad**

### **Índice de Acidez <sup>40</sup>**

Procedimiento: Se pesaron 5 g de aceite en un matraz erlenmeyer de 300 ml, se adicionaron 25 ml de alcohol etílico previamente neutralizado y se calentó en baño maria, posteriormente, se adicionó 1 ml de solución de fenolftaleina y se tituló con solución de KOH 0.1N, agitando frecuentemente hasta que la coloración rosada permaneció durante 30 seg.

### **EXPRESIÓN DE RESULTADOS**

$$\text{Índice de Acidez (mg KOH / g de muestra)} = 56.1 \times N \times V / p$$

En donde:

56.1 equivalente químico del hidróxido de potasio, N= normalidad del hidróxido de potasio

V = ml de la solución valorada de KOH gastados en la titulación de la muestra.

### **Índice de Peróxido <sup>42</sup>**

Procedimiento: Se pesaron 5 g de aceite en un matraz erlenmeller de 250 ml, se agregaron 30 ml de solución ácido acético-cloroformo y se agitó. Posteriormente se adicionaron 0.5 ml de solución saturada de yoduro de potasio; se agitó y dejó reposar durante 1 min, después de este tiempo se adicionaron 30 ml de agua, se tituló lenta y cuidadosamente con solución de tiosulfato de sodio 0.001 N, agitando vigorosamente después de cada adición, hasta que se obtuvo una coloración ligeramente amarilla, se adicionan 0.5 ml de solución indicadora de almidón al 1% y se continuó la titulación sin dejar de agitar hasta la desaparición del color azul. Se hizo una prueba en blanco.

## EXPRESIÓN DE RESULTADOS

$$\text{Índice de Peróxido (meq / Kg de aceite)} = \frac{(A - A1) \times N \times 1000}{M}$$

En donde:

A = ml de solución de tiosulfato de sodio, gastados en la titulación de la muestra, A1 = ml de solución de tiosulfato de sodio, gastados en la titulación del blanco, N = Normalidad de la solución de tiosulfato de sodio y M = masa de la muestra, en gramos.

### **Prueba de Rancidez <sup>44</sup>**

Procedimiento: Se vaciaron 10 ml de aceite en un tubo de ensayo de 50 ml perfectamente limpio y seco, se adicionaron 10 ml de ácido clorhídrico concentrado y se tapó con tapón de goma, se agitó vigorosamente durante 30 seg, posteriormente se agregaron 10 ml de solución de floroglucinol al 0.1 % en éter y se tapó nuevamente para evitar una posible proyección. Se agitó fuertemente durante 1 min y dejó en reposo, para finalmente observar el color que obtuvo la mezcla.

## EXPRESIÓN DE RESULTADOS

La formación de un color rosa a rojo intenso en la capa ácida indica la rancidez de la muestra, se puede considerar que la intensidad del color es proporcional al grado de rancidez de la muestra.

## **Determinación de contaminantes**

### **Determinación Sensorial de Impurezas Indeseables <sup>46</sup>**

Procedimiento: Se pesaron 30 g de muestra en un vaso de precipitados de 250 ml, se calentó hasta 210°C, posteriormente se procedió a efectuar la prueba organoléptica, oliendo la muestra.

#### **EXPRESIÓN DE RESULTADOS**

Al realizarse la prueba, se percibe un olor característico suave, no desagradable y particular a la semilla de donde proviene el aceite, no se debe percibir olores extraños y rancios.

### **Humedad y Materia Volátil <sup>43</sup>**

Procedimiento: En un vaso de precipitados a peso constante, se pesaron 10 g de muestra previamente fundida, se puso en la parrilla eléctrica a una temperatura tal que la muestra no salpicara. El punto final se obtuvo cuando en la muestra no había burbujas y al poner un vidrio de reloj limpio y seco sobre el vaso; el vapor no se condensó. Una vez alcanzado el punto final se siguió calentando hasta la formación incipiente de humos, pero teniendo cuidado de no calentar a más de 130 °C. Finalmente se enfrió la muestra en un desecador y se pesó las veces necesarias para obtener un peso constante.

#### **EXPRESIÓN DE RESULTADOS**

$$\text{Humedad y Materia Volátil (\%)} = \frac{M1 - M2}{M1} \times 100$$

En donde:

M1 = masa de la muestra y M2 = Masa de la muestra sin humedad y materia volátil.

### Contenido de Jabón <sup>10</sup>

Procedimiento: Se pesaron 40g de aceite en un tubo de ensayo perfectamente limpio y lavado con la muestra, se adicionó 1 ml de agua, se calentó en baño de vapor, agitando vigorosamente. Posteriormente se adicionó 50 ml de agua-acetona (2 %), recién preparada y se calentó, dejando en reposo hasta que se separaron las dos capas. La capa superior se formó un color verde azulado y se le adicionó ácido clorhídrico 0.01N muy despacio con una microbureta hasta obtener un vire color amarillo.

#### EXPRESIÓN DE RESULTADOS

$$\% \text{ Jabón disuelto como oleato de sodio} = \frac{0.304 T}{M}$$

En donde:

T = Volumen en ml de ácido clorhídrico 0.01N empleado y M= Masa de la muestra empleada (g).

0.304 son los miliequivalentes del oleato de sodio.