



UNIVERSIDAD TÉCNICA PARTICULAR DE LOJA
La Universidad Católica de Loja

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

MAESTRÍA EN ALIMENTOS

Caracterización química del aceite vegetal de los frutos de maní de árbol (*Caryodendron orinocense* H. Karst) de la provincia de Morona Santiago

Trabajo de titulación previo a la obtención del título de:

MAGISTER EN ALIMENTOS

Autor: Maldonado Yépez, Mauricio Rafael

Director: Morocho Zaragocín, Segundo Vladimir

LOJA
2022



Esta versión digital, ha sido acreditada bajo la licencia Creative Commons 4.0, CC BY-NC-SA: Reconocimiento-No comercial-Compartir igual; la cual permite copiar, distribuir y comunicar públicamente la obra, mientras se reconozca la autoría original, no se utilice con fines comerciales y se permiten obras derivadas, siempre que mantenga la misma licencia al ser divulgada. <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/deed.es>

2022

Aprobación del director del Trabajo de Titulación

Loja, 29 de agosto, de 2022

Magister.

Maritza Janneth Castillo Carrión

DIRECTORA DE LA MAESTRÍA EN ALIMENTOS - UTPL

Ciudad.-

De mi consideración:

El presente Trabajo de Titulación denominado: Caracterización química del aceite vegetal de los frutos de maní de árbol (*Caryodendron orinocence* H. Karst) de la provincia de Morona Santiago realizado por Mauricio Rafael Maldonado Yépez ha sido orientado y revisado durante su ejecución, por cuanto se aprueba la presentación del mismo. Así mismo, doy fe que dicho Trabajo de Titulación ha sido revisado por la herramienta antiplagio institucional.

Particular que comunico para los fines pertinentes.

Atentamente,

Dr. Segundo Vladimir Morocho Zaragocín

C.I.: 1103269070

Correo electrónico: svmorocho@utpl.edu.ec

Declaración de autoría y cesión de derechos

“Yo, Mauricio Rafael Maldonado Yépez, declaro y acepto en forma expresa lo siguiente:

Ser autor del Trabajo de Titulación denominado: Caracterización química del aceite vegetal de los frutos de maní de árbol (*Caryodendron orinocence* H. Karst) de la provincia de Morona Santiago, específicamente de los contenidos comprendidos en: Capítulo 1. Marco teórico *Caryodendron Orinocense*, Capítulo 2. Metodología de la investigación, Capítulo 3. Interpretación y resultados, siendo el Dr. Segundo Vladimir Morocho Zaragocín, director del presente trabajo; y, en tal virtud, eximo expresamente a la Universidad Técnica Particular de Loja y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones judiciales o administrativas, en relación a la propiedad intelectual. Además, ratifico que las ideas, conceptos, procedimientos y resultados vertidos en el presente trabajo investigativo son de mi exclusiva responsabilidad.

Que mi obra, producto de mis actividades académicas y de investigación, forma parte del patrimonio de la Universidad Técnica Particular de Loja, de conformidad con el artículo 20, literal j), de la Ley Orgánica de Educación Superior; y, artículo 91 del Estatuto Orgánico de la UTPL, que establece: “Forman parte del patrimonio de la Universidad la propiedad intelectual de investigaciones, trabajos científicos o técnicos y tesis de grado que se realicen a través, o con el apoyo financiero, académico o institucional (operativo) de la Universidad”.

Autorizo a la Universidad Técnica Particular de Loja para que pueda hacer uso de mi obra con fines netamente académicos, ya sea de forma impresa, digital y/o electrónica o por cualquier medio conocido o por conocerse, sirviendo el presente instrumento como la fe de mi completo consentimiento; y, para que sea ingresada al Sistema Nacional de Información de la Educación Superior del Ecuador para su difusión pública, en cumplimiento del artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

.....

Autor: Mauricio Rafael Maldonado Yépez

C.I.: 0105483671

Correo electrónico: mrmaldonado7@utpl.edu.ec

Dedicatoria

El presente trabajo de titulación lo dedico en primer lugar a Dios que sin el nada es posible, ademas a mis padres Remigio Maldonado y Dolores Yépez por siempre ser el ejemplo a seguir, el soporte en mi crecimiento, apoyo en dificultades y amigos en el andar.

Agradecimiento

Primordialmente agradezco a mis padres por ser siempre la guía en el desarrollo de mis distintas facetas.

Agradezco a la Universidad Técnica Particular de Loja, a sus docentes por todo el esfuerzo y formación académica que me brindaron y especialmente al Dr. Vladimir Morocho que se desenvolvió como tutor en este trabajo de titulación, gracias por el apoyo, dedicación y sobre todo por su vasta experiencia en este campo que fueron claves para culminar este trabajo de investigación.

Gracias a Mayra Montalván por su apoyo, dedicación y tiempo, sin su ayuda este trabajo no hubiera sido posible.

A mi negra.

Índice de contenido

Carátula	I
Aprobación del director del Trabajo de Titulación	I
Declaración de autoría y cesión de derechos	III
Dedicatoria.....	V
Agradecimiento	VI
Índice de Contenido	VII
Índice de Tablas.....	X
Índice de Figuras.....	XI
Resumen.....	1
Abstract.....	2
Introducción.....	3
Capítulo uno.....	5
Marco teórico.....	5
1.1 Familia Euphorbiaceae	5
1.2 Género Caryodendron.....	5
1.3 Caryodendron orinocense.....	5
1.3.1 Taxonomía.....	6
1.3.2 Usos y propiedades	6
1.4 Aceite vegetal.....	6
1.4.1 Extracción por presión mecánica o compresión.....	7
1.4.2 Extracción con solventes.....	8
1.4.3 Extracción por fluidos supercríticos.....	10
1.5 Cromatografía	10
1.5.1 Cromatografía de gases.....	11

1.5.2 Espectrometría de masas.....	11
1.5.3 Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas.....	12
1.5.4 Detector de ionización de flama (FID).....	12
1.6 Lípidos.....	12
1.7 Ácidos grasos.....	13
1.7.1 Ácidos grasos saturados.....	13
1.7.2 Ácidos grasos insaturados.....	13
1.7.3 Ácidos grasos monoinsaturados.....	13
1.7.4 Ácidos grasos poliinsaturados.....	14
Capítulo dos.....	15
Materiales y métodos.....	15
2.1 Metodología.....	15
2.2 Material vegetal.....	15
2.3 Obtención del aceite vegetal.....	16
2.4 Determinación de ácidos grasos.....	17
2.4.1 Preparación de los estándares.....	17
2.4.2 Metilesterificación de las muestras.....	18
2.5 Determinación de la capacidad antioxidante del aceite.....	18
2.5.1 Proceso de determinación de capacidad antioxidante mediante método ABTS.....	18
2.5.2 Proceso de determinación de capacidad antioxidante mediante método DPPH	20
2.6 Determinación de presencia de esteroides.....	21
2.6.1 Procedimiento para elaborar curva de calibración.....	21
Capítulo tres.....	23
Resultados y discusión.....	23
3.1 Rendimiento de aceite de las semillas de maní de árbol.....	23
3.2 Identificación de ácidos grasos.....	24
3.3 Actividad antioxidante de las semillas de maní de árbol.....	25
Conclusiones.....	26

Recomendaciones.....	27
Referencias.....	28
Apéndice A. Extracción del aceite de maní de árbol.....	31
Apéndice B. Determinación de ácidos grasos.....	32
Apéndice C. Cromatograma.....	32
Apéndice D. Capacidad antioxidante.....	33
Apéndice E. Esteroles.....	34
Apéndice F. Cromatograma de inyección de esteroles.....	31

Índice de tablas

Tabla 1:	5
Tabla 2:	13
Tabla 3:	22
Tabla 4:	23

Índice de figuras

Figura 1:	7
Figura 2:	8
Figura 3:	9
Figura 4:	10
Figura 5:	14
Figura 6:	15
Figura 7:	15
Figura 8:	16
Figura 9:	16
Figura 10:	17
Figura 11:	18
Figura 12:	19

Resumen

El aceite vegetal de la semilla de *Caryodendron Orinocense* (maní de árbol) se extrajo mediante prensado mecánico en frío. Se realizó la caracterización química mediante cromatografía de gases acoplado a masas, identificando un total de 5 ácidos grasos, siendo los ácidos: Linoléico (70.10%), Oléico (15.42%), Palmítico (7.81%) los mayoritarios. Además se evaluó la actividad antioxidante mediante el método ABTS y DPPH

Palabras clave: *Caryodendron orinocense*, ABTS, Maní de árbol.

Abstract

The vegetable oil from *Caryodendron Orinocense* (Maní de árbol) seed was extracted using mechanical cold pressing method. Chemical characterization was performed by gas chromatography coupled to mass, identifying a total of 5 fatty acids, the acids being: 9-Octadecanoico Z (37.23%), 9,12-Octadecadienoico (29.20%) and Methyl stearate (20,62%) the majority. In addition, antioxidant activity was evaluated using ABTS and DPPH methods.

Key words: *Caryodendron orinocense*, ABTS, Maní de árbol.

Introducción

La especie *Caryodendron orinocense* es una semilla amazónica nativa del sur del continente americano perteneciente a la familia de las Euphorbiaceae (León Yáñez et al., 2011). Es esta semilla la materia de estudio en este trabajo y presenta la propiedad de ser rica en aceite (32,45%). Las comunidades de la provincia de Morona Santiago la utilizan de múltiples maneras, la principal es como aceite de cocina.

Con la finalidad de aportar estudios al proyecto PRO AMAZONIA en el que el presente trabajo de titulación se encuentra enmarcado, se inicia con un estudio sobre la extracción del aceite de semilla de maní de árbol obteniendo así el rendimiento bajo prensado mecánico en frío a condiciones establecidas, además se identifica la composición química del aceite vegetal mediante cromatografía de gases y por último se procede a la determinación de la capacidad antioxidante.

En el primer capítulo se encuentra información general sobre el maní de árbol, la descripción de la semilla, los métodos de extracción del aceite, los tipos de ácidos grasos, el método cromatográfico utilizado para la evaluación de ácidos grasos así como la metodología para el análisis de la actividad antioxidante.

En el segundo capítulo se detallan temas sobre la metodología utilizada para la obtención del aceite de semilla de maní de árbol, el análisis del aceite para obtener la determinación de ácidos grasos mediante cromatografía de gases así como de la capacidad antioxidante mediante DPPH y ABTS y para concluir este capítulo se la el procedimiento para reconocer la presencia de esteroides.

Finalmente en el tercer capítulo se puede apreciar los resultados obtenidos en la investigación de la extracción del aceite indicado anteriormente, el análisis del aceite con sus respectivos ácidos grasos y se discuten dichos resultados así como las conclusiones.

Este proyecto de investigación pretende dar cumplimiento a los objetivos planteados y busca fomentar el conocimiento sobre el maní de árbol debido a los pocos estudios que

existen de este fruto y sus posibles usos como alternativas de ácidos grasos para la industria alimentaria. Para concluir se recomiendan acciones para quienes continuen con la investigación.

Capítulo uno

Marco teórico

1.1 Familia Euphorbiaceae

Euphorbiaceae es una extensa familia que presenta en el Ecuador 46 especies endémicas de las 244 totales encontradas en el país (León Yáñez et al., 2011), generalmente se detectan como hierbas y arbustos (Webster, 2014) aunque en zonas de mayor humedad y temperatura como en distribuciones tropicales es común hallarlas como árboles frondosos (monoicos o dioicos).

1.2 Género Caryodendron

Es un género endémico de América, precisamente del sur del continente, que abarca solamente cuatro especies que se encuentran dispersas desde el norte de Perú y Brasil hasta el sur de Venezuela, atravesando así los bosques húmedos de Ecuador, Panamá y Colombia. (García y Basso, 2012)

El género Caryodendron expone notables particularidades como especímenes de los cuales se puede extraer aceites u otros de uso medicinal. (Ortega, 2014)

1.3 Caryodendron orinocense h karst.

Este árbol amazónico es reconocido en la región con diferentes nombres de entre los que destacan maní de árbol, cacay, inchi, tocay, taque, etc.

Es una planta que puede llegar a medir 40 m de altura en hábitat natural y en cultivo llega hasta los 15 m de alto. Sus frutos se presentan de manera oval con dimensiones de 2,7-4,5 cm de diámetro y 3,4 - 6,5 cm de longitud con 3 semillas de forma igualmente ovoidal en cuya composición se presenta aceite de manera abundante. (Ávila y Díaz-Merchán, 2002).

1.3.1 Taxonomía

Tabla 1

Clasificación taxonómica de Caryodendron Orinocence

Reino	Plantae
Clase	Equisetosida
Subclase	Magnoliidae
Orden	Malpighiales
Superorden	Rosanae
Familia	Euphorbiaceae
Género	Caryodendron
Especie	C. Orinocence

Nota. Adaptado de Tropicos.Org (2020)

1.3.2 Usos y propiedades

Las nueces de los frutos una vez han alcanzado la maduración son comestibles y presentan características gustativas similares al maní mientras que las mismas semillas al contener una alta proporción de aceite en su composición son utilizadas como aceite de mesa por las poblaciones amazónicas llegando incluso en alguno sectores a emplearse como medicina. (Ávila, 2002)

Además según Ávila (2002) en cuanto a madera se refiere, es utilizada en ebanistería por los locales y en otros caso puede llegar a convertirse en leña o como combustible para la producción de carbón.

1.4 Aceite vegetal

El aceite vegetal es un compuesto orgánico que se consigue partiendo de semillas u otras partes energéticas de las plantas y vegetales, son utilizados con fines alimenticios, lubricantes o energéticos. Su composición corresponde a una mezcla de 94% de triglicéridos y 6% de compuestos minoritarios como ácidos grasos libres, esteroides y ceras. (Pons, 2015).

Los aceites son ésteres preparados por medio de la condensación de ácidos grasos con glicerol. Son considerados unos de los compuestos más estables ya que no se degradan fácilmente, son insolubles en agua y poseen menor densidad que la misma. Sin embargo, debido al proceso oxidativo se deterioran químicamente con el pasar del tiempo, este proceso

denominado rancidez es una de las principales causas del deterioro de calidad de los alimentos que contienen un alto grado de lípidos. (Durán Agüero, 2015)

1.4.1 Extracción por presión mecánica o compresión

La extracción de los aceites vegetales por la técnica de compresión es una de las más usadas. Este método consiste en la utilización de altas presiones para colapsar las estructuras vegetales y lograr separar el aceite de las materias en las que se encuentra contenido.

El primer paso a seguir es la deshidratación de la materia prima con el objetivo de conferir a las semillas la plasticidad necesaria para que el prensado sea óptimo, posteriormente ya con la semilla lista para ser utilizada se procede a realizar la molienda de la misma, la cual puede ser ejecutada con molinos a martillos, cilindros o espolones. (Navarrete, 2020)

Las semillas previamente molidas proceden a ser prensadas, las prensas utilizadas para este proceso pueden ser continuas o discontinuas, siendo la primera de estas la más utilizada debido a los bajos costos de instalación. Este aparato en un solo paso logra separar la masa del aceite obteniendo una masa proteínica, la misma que posteriormente pasa a un tamiz vibratorio para colar las impurezas. Esta masa posee aproximadamente un 8% de aceite por lo que puede ser sometida a una segunda presión y un proceso de filtrado final con el fin de obtener el aceite crudo. (Guala, 2012)

Figura 1

Prensa Mecánica



Nota. Rafael Maldonado Y.

1.4.2 Extracción por solventes

También es conocida como extracción sólido-líquido, es un método muy usado para separar antioxidantes partiendo de residuos sólidos. Dichos residuos necesitan la extracción con solventes y la posterior eliminación de los mismos para obtener un extracto puro. Los solventes más comunes son metanol, etanol, isopropanol, éter etílico, éter isopropílico, acetato de etilo, cloroformo, hexano, ciclohexano, xileno, acetona. En este caso el benceno no es utilizado por su inseguridad a la salud.

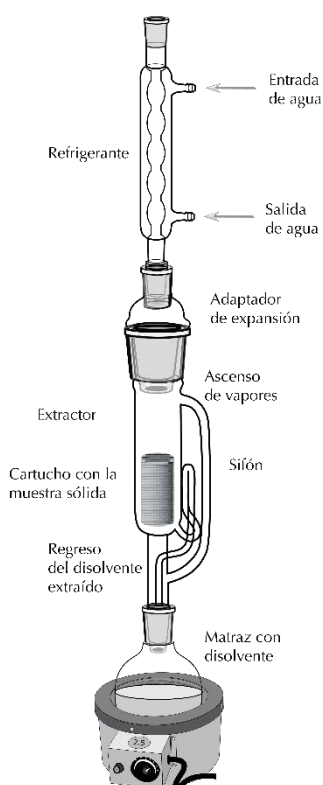
Diversas técnicas son empleadas para este procedimiento, siendo la más utilizada la extracción en Soxhlet, la misma que consiste en emplear uno o varios solventes para que extraigan selectivamente los solutos que se encuentran contenidos en una matriz sólida. En la actualidad existe un aumento en la demanda de técnicas de extracción en lapsos de tiempo reducidos, ya que esto ayuda a reducir el consumo de disolventes orgánicos y la contaminación. (Navarrete, 2020)

La extracción en Soxhlet se basa en las siguientes etapas:

- La materia prima que se desea extraer se coloca en el cartucho con papel filtro.
- Colocar el solvente en el matraz.
- El disolvente se evapora y empieza a ascender hacia el condensador de reflujo por medio del proceso de ebullición.
- Lo condensado se enfría y cae gota a gota sobre un cartucho poroso que contiene la muestra en su interior.
- Cuando se alcanza un nivel de disolvente determinado se produce un reflujo por medio del sifón que devuelve la parte soluble a el matraz de disolvente.
- Este proceso se repite la cantidad de veces necesarias para que la muestra se agote y el extracto puro se concentre en el matraz.

Figura 2

Componentes del sistem Soxlet



Nota. Adaptado de Navarrete

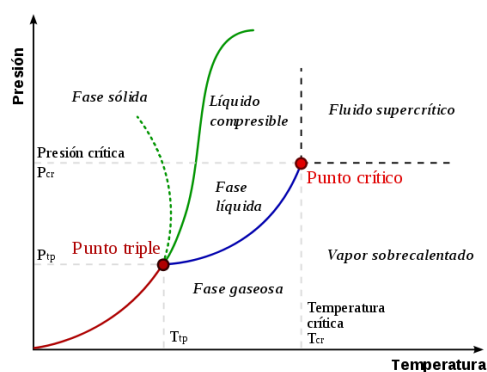
1.4.3 Extracción por fluidos supercríticos

Se conoce como fluido super crítico a cualquier compuesto que al ser sometido a una presión y temperatura superior a la de su punto crítico se comporta como un gas y adquiere propiedades que no poseía cuando se encontraba en estado líquido; sin embargo, al conservar la densidad de un líquido tiene poder disolvente. (Parzanese, 2016).

El proceso de extracción con fluidos supercríticos ayuda a separar las sustancias contenidas dentro de una matriz sólida, que se ejecuta por arriba del punto crítico del solvente utilizado, basada en la capacidad de ciertos compuestos en este estado de modificar sus propiedades, de esta manera se puede ajustar selectivamente la temperatura y presión utilizada con el fin de disolver y separar selectivamente ciertas sustancias. Por consiguiente, la velocidad de extracción y separación es superior que el de los procesos tradicionales. (Wong Paz, 2020)

Figura 3

Delimitación teórica de fluidos supercríticos



Nota. Adaptado de Parzanese (2016)

1.5 Cromatografía

En este trabajo de titulación se ha optado por la utilización de la cromatografía como método primordial para análisis de compuestos. Según Legaz (2012) se pueden diferenciar dos fases. La primera es la estacionaria y la posterior es la fase móvil, esto con la finalidad de disociar dos o más compuestos que conforman una muestra. La versatilidad de este método se debe a sus dos fases que son: gas-líquido (a vapor) y sólido-líquido (en papel, columna o de capa fina).

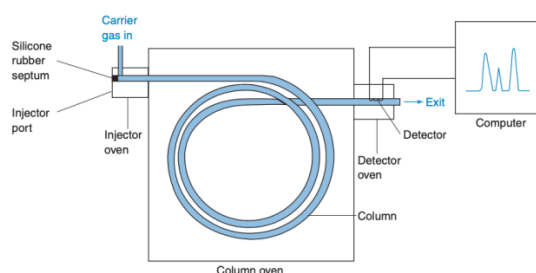
1.5.1 **Cromatografía de gases**

En la cromatografía de gases es necesario reconocer el término fase móvil gaseosa que no es más que un analito en forma de gas que es transportado a través de la columna por un gas portador el cual dependerá generalmente de tres factores: el detector requerido, la velocidad y la eficiencia en la separación. Claro ejemplos de estos gases son Hidrógeno, Nitrógeno o Helio.

Es necesario que la columna se encuentre a temperaturas elevadas con el fin de producir determinada presión de vapor y a su vez el analito eluya en un tiempo adecuado. Un punto crucial a resaltar es que el detector debe mantenerse a una temperatura superior a la de la columna para mantener en estado gaseoso los analitos. (Harris, 2007)

Figura 4

Diagrama de un cromatógrafo de gases



Nota. Harris (2007)

1.5.2 **Espectrometría de masas**

Es una técnica ampliamente utilizada en la industria, generalmente la encontramos en control de calidad, procesos rutinarios industriales y en este caso en investigación. Su gran campo de acción se debe a que es capaz de realizar análisis extremadamente completos entre el cual destaca la información isotópica de moléculas específicas (Gutiérrez y Droguet, 2002).

1.5.3 Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas

La espectrometría de masas es fundamental para análisis en los que se requieren información tanto cuantitativa como cualitativa otorgando así una sensibilidad muy alta y diferenciando los mismo analitos inclusive con el mismo tiempo de retención. (Harris, 2007).

Para la ejecución exitosa de estos dos métodos combinados que trabajan bajo base gaseosa es necesario el acoplamiento directo lo que permite la separación de compuestos mas complejos mediante la elución secuenciada de todos los componentes de manera individual y posterior registro de los picos cromatográficos que mediante sus espectros son claramente identificados. (Gutiérrez y Droguet, 2002).

1.5.4 Detector de ionización de flama (FID)

Detector utilizado de manera amplia ya que su principal función es la de análisis de compuestos orgánicos, su modo de funcionamiento se basa en un quemador que enciende una mezcla predeterminada de aire, hidrógeno y el efluente de la columna, al pasar por el proceso de combustión los compuestos generan electrones libre e iones que son reconocidos por un electrodo especializado y genera una señal eléctrica. (Olguín y Rodríguez, 2004).

1.6 Lípidos

Los lípidos constituyen una agrupación de moléculas cuya característica particular es su insolubilidad en agua y solubilidad en solventes orgánicos tales como: Cloroformo, benceno, hexano, etc. En su estado sólido son denominados grasas y cuando se encuentran en estado líquido a temperatura ambiente se conocen como aceites.

Los lípidos son bloques de construcción fundamentales de las células que desempeñan funciones clave en la señalización, el almacenamiento de energía y la formación de membranas. Las especies de lípidos tienen una estructura muy diversa y su distribución varía entre organismos. Esta inmensa diversidad surge de la biosíntesis de varias combinaciones de estos componentes básicos y da como resultado una amplia gama de implicaciones funcionales. (Flores, 2020)

1.7 Ácidos grasos

Existen cuatro tipos principales de ácidos grasos:

1.7.1 Ácidos grasos saturados

Los ácidos grasos saturados forman parte de los triglicéridos y priman en las grasas de esqueleto lineal con longitudes de cadena que van desde C14 a C24.

Este tipo de ácidos tienen gran estabilidad ya que solo cuentan con enlaces sencillos entre los átomos de carbono adyacentes, además, tienen la cualidad de mantenerse sólidos a temperatura ambiente.

Los ácidos grasos saturados de peso molecular bajo, es decir aquellos con cadenas menores a 14 carbonos se encuentran presentes únicamente en aceite de coco, empalme y palmiste, mientras que los de peso molecular mayor se detectan en leguminosas y en mayor proporción en alimentos de origen animal. (Revelou, 2021)

1.8.2 Ácidos grasos insaturados

Pueden estar conformadas por uno o varios dobles enlaces pudiendo clasificarse de esta manera en ácidos grasos monoinsaturados o poliinsaturados.

Además, pueden clasificarse en función de la estructura de su molécula en “cis” o “trans”; formando la primera de ellas la mayor parte de los ácidos grasos insaturados de la dieta, sin embargo, en menor proporción se encuentran aquellos ácidos grasos en forma trans en la leche y carne de rumiantes. (Flores, 2020)

1.8.3 Ácidos grasos monoinsaturados

Este tipo de ácidos tienen un doble enlace único, y al ser sintetizados a partir de otros ácidos grasos o hidratos de carbono no forman parte de ácidos grasos esenciales.

Se encuentran presentes en pequeñas proporciones en alimentos de origen vegetal y animal, como por ejemplo en semillas, frutos secos, lácteos, cárnicos, aceites vegetales. (Cabezas-Zábala, 2016)

Tabla 2*Ácidos grasos insaturados*

Nombre Común	Abreviatura delta	Principales fuentes
Palmitoléico	16:1 Δ 9c (9c-16:1)	Aceites con origen marino, aceite de macadámia así como la parte mayoritaria de aceites de origen animal y vegetal.
Oleico	18:1 Δ 9c (9c-18:1) (OA)	Grasas y aceites, principalmente el aceite de oliva, canola, girasol y cártamo (ricos en ácido oleico).
Cis-Vaccénico	18:1 Δ 11c (11c-18:1)	La mayoría de aceites vegetales.
Gadoleico	20:1 Δ 9c (9c-20:1)	Origen marino
Erúcico	22:1 Δ 13c (13c-22:1)	Semilla de mostaza, aceite de colza rico en ácido erúcico.
Nervónico	24:1 Δ 15c (15c-24:1)	Origen marino

1.8.4 Ácidos grasos poliinsaturados

Este tipo de ácidos están formados por dos o más enlaces dobles los mismos que le permiten reaccionar con el oxígeno incrementando la posibilidad de enranciamiento de la grasa. Los aceites vegetales y los pescados son especialmente ricos en ácidos grasos poliinsaturados. (Cabezas-Zábala, 2016)

Capítulo dos

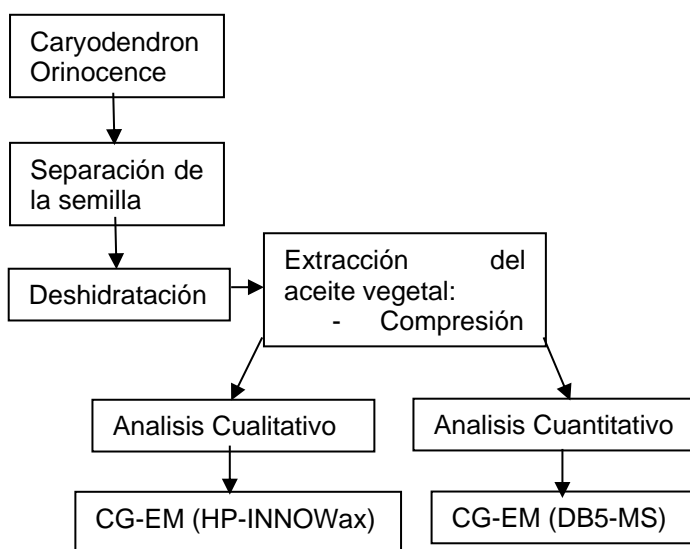
Materiales y métodos

2.1 Metodología

Para este presente trabajo de investigación, lo referente a los análisis experimentales fueron realizados en los laboratorios de Química Básica y Aplicada de la Universidad Técnica Particula de Loja con la siguiente estructura:

Figura 5

Esquema experimental para el trabajo de investigación



2.2 Material vegetal

Para empezar se debe lavar los frutos para facilitar el descarte de aquellos que esten en fase de descomposición y evitar así una posible contaminación, en este estado se registra el peso.

Ejerciendo presión sobre la corteza es posible segmentarla y deshecharla para encontrar la semilla, nuevamente se realiza una inspección visual para separar y eliminar las que se encuentren en un estado que no sea el óptimo, pesar la corteza, semilla y el desperdicio y registrar los valores. En este punto del proceso es posible congelar el producto para su posterior procesamiento (deshidratación).

2.3 Obtención del aceite vegetal

Se realizó la extracción por prensado mecánico en frío, para lo cual una vez la semilla se encuentra limpia (Figura 5) se procede a deshidratar durante 36 horas a 55° Centígrados para dar paso a la reducción del tamaño de partícula (Figura 6), posteriormente se realizó un segundo proceso de deshidratado a 45°C durante 50 horas y se dio paso igualmente a reducción de partícula mediante molturado en molino, con ayuda de gasas se forman cartuchos de 300g de muestra (Figura 7) y se coloca bajo presión de 15 toneladas, cada proceso de extracción se realizó durante 20 minutos (Figura 8). Posteriormente se filtra obteniendo así el aceite vegetal de maní de árbol, el mismo que fue almacenado en frasco boeco cubierto con papel aluminio protegiéndolo así del paso de luz y fue almacenado en congelación a temperatura de -5° centígrados.

Figura 6

Limpieza de semilla de maní de árbol



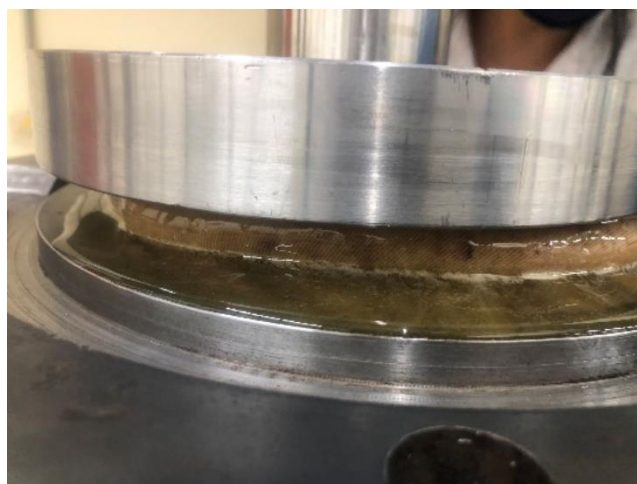
Nota. Rafael Maldonado Y.

Figura 7

Tamaño de partícula previo extracción



Nota. Rafael Maldonado Y.

Figura 8*Cartuchos de muestra**Nota. Rafael Maldonado Y.***Figura 9***Extracción de aceite de maní de árbol**Nota. Rafael Maldonado Y.*

2.4 Determinación de ácidos grasos

2.4.1 Preparación de los estándares

Se realiza una solución madre (SM) de los estándares FAME a 40.000 ppm con hexano, a partir de esta se procede a la siguiente dilución:

Estándar 1: 20.000 ppm (500 ul SM + 500 ul hexano)

Estándar 2: 15.000 ppm (250 ul SM + 750 ul hexano)

Estándar 3: 10.000 ppm (125 ul SM + 875 ul hexano)

Estándar 4: 5.000 ppm (500 ul solución estándar 3 + 500 ul hexano)

Estándar 5: 2.500 ppm (500 ul solución estándar 4 + 500 ul hexano)

Figura 10

Preparación de estándares



Nota. Rafael Maldonado Y.

2.4.2 Metilesterificación de las muestras

Se debe pesar 100mg de muestra a la cual se añade 2mL de hexano y se lleva a vortex durante 15 segundos, se agrega 200uL de solución KOH/metanol 2M y se lleva nuevamente a vortex, esta vez durante 30 segundos para pasar a centrifugar a 2000 rpm durante 10 minutos. Con cuidado tomar 100uL del sobrenadante (fase hexánica) y pasarla a un vial ámbar al cual se debe aforar a 1ml con 900uL de hexano.

Se empleó la técnica conocida como cromatografía de gases, en el equipo marca Agilent Technologies 6890N-Network CG System, serial US10347010, el cual fue acoplado al detector de ionización de llama (FID) para analizar los cromatogramas con tiempos de elución. La columna utilizada fue la DB-23 de marca Agilent, específica para estudiar FAMES de aceites y grasas. en este caso FAME Mix, C4-C24 certified reference material, wt. % (varied) de marca Sulpeco. Para la integración se utilizó un programa MSD ChemStation.

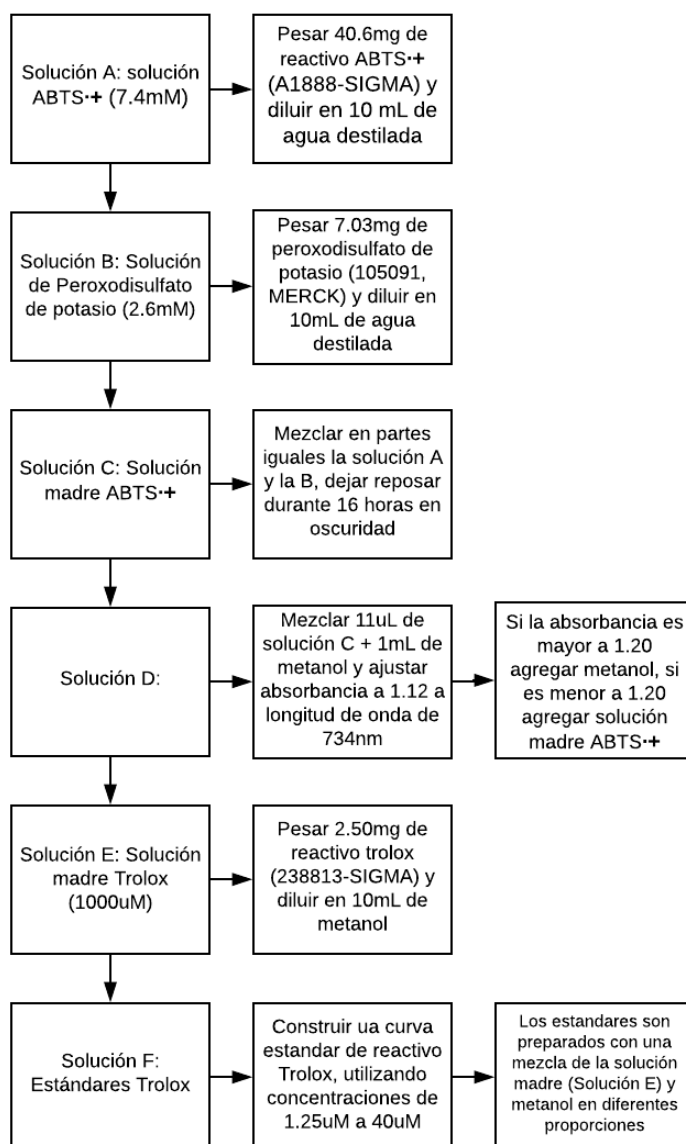
2.5 Determinación de capacidad antioxidante del aceite

Para realizar la determinación de la actividad antioxidante se optó por el método ABTS y DPPH con un microlector Epoch 2 de placas.

2.5.1 Proceso de determinación de capacidad antioxidante mediante método ABTS

A continuación se detalla el procedimiento del método ABTS que fue realizado en los laboratorios del departamento de química de la Universidad Técnica Particular de Loja.

Figura 11
Diagrama de la preparación de soluciones ABTS•+



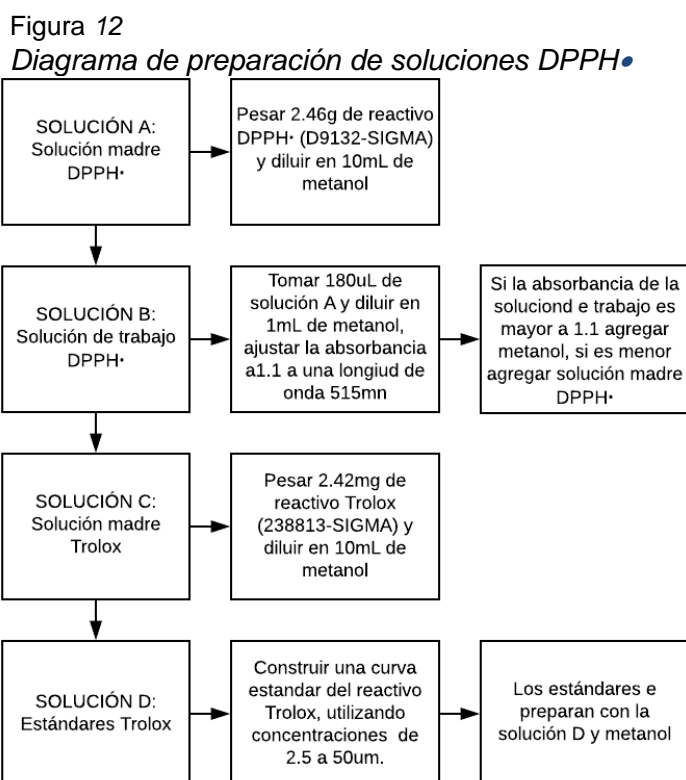
Nota. Investigación Experimental UTPL

Se debe construir la curva de calibración al graficar la concentración de Trolox de cada uno de los estándares que será expresado en el eje de las X mientras que en el eje de las Y se encuentra la absorbancia en cuyo coeficiente de correlación (R^2) deberá ser ≥ 0.995 . Es necesario preparar microplacas para la lectura de dicha absorbancia colocando: Blanco (metanol), control de absorbancia de la solución D (30uL de metanol + 270 uL de solución D), estas lecturas se realizan por triplicado y durante 1 hora se deja reposar en un ambiente con temperatura de 25° Centígrados en oscuridad, a una longitud de onda de 734 nm, con la ayuda de estos resultados se grafica la curva de calibración.

Fue necesario preparar microplacas para realizar la lectura de la absorbancia de la muestra por triplicado: Blanco 300uL (metanol), control de la absorbancia solución D (270uL de la solución D + 30uL de metanol), control del estándar Trolox (270uL de la solución D y 30uL de la solución correspondiente), muestra (270ul de la solución D y 30ul de aceite de maní de árbol) este proceso se realiza por triplicado y se debe dejar en reposo a oscuras durante 1 hora a 25° centígrados, la lectura se realiza a 734 nm.

2.5.2 Proceso de determinación de capacidad antioxidante mediante método DPPH

A continuación se describe la metodología DPPH el cual fue realizado en los laboratorios de química de la Universidad Técnica Particular de Loja.



Nota. Investigación Experimental UTPL

Igualmente es necesario realizar una curva de calibración representando en el eje de las X la concentración de Trolox, en cambio en el eje de las Y se representa la absorbancia, el coeficiente de correlación (R^2) debe ser ≥ 0.995 , es necesario preparar microplacas para la lectura de la absorbancia, en las cuales se debe colocar por triplicado, Blanco (300ul

metanol), control de la absorbancia de la solución B (30uL de metanol y 270uL de solución B), la lectura de estándares (de la solución B colocar 270uL y 30uL del estándar correspondiente), igualmente las lecturas se realizan por triplicado, a continuación se debe dejar reaccionar en oscuridad durante 1 hora a 21° Centígrados y la lectura se da a 515 nm.

Es necesario preparar placas para la lectura de la absorbancia de la muestra y los reactivos ingresados se deben realizar igualmente por triplicado blanco (300uL metanol). Control de la absorbancia B (30uL de metanol y 270uL de la solución B), control de la absorbancia de un estándar de Trolox utilizado en la curva calibrada (270uL de la solución B y 30 uL del estándar que corresponda), se realiza entonces la lectura de la muestra (270uL de la solución B y 30uL de la aceite de la chonta a analizar). Nuevamente se debe dejar reaccionar a 20° Centígrados durante 1 hora en oscuridad y la lectura de la absorbancia se ejecuta a 515 nm.

2.6 Determinación de presencia de esteroides

Para realizar el procedimiento es necesario obtener los siguientes reactivos: Estándar Estigmasterol 95% Sigma Aldrich, estándar β -Sitosterol 70% Sigma Aldrich, hexano grado HPLC y acetona grado HPLC.

2.6.1 Procedimiento para elaborar curva de calibración

El primer lugar se debe llevar cada estándar a 100ppm con hexano grado HPLC y tomar una alícuota de 5ml de cada uno de ellos, llevarlo a un vaso de precipitación y evaporar a sequedad.

Este residuo se debe disolver con 3mL de acetona grado HPLC, aforar en balón de 5mL para conseguir así el mix de estándares de 100ppm, tomar de aquí las alícuotas para preparar los estándares de 10 ppm, 25 ppm, 50 ppm, 75 ppm y 100 ppm.

Se debe llevar al cromatografo de gases marca Thermo Scientific Trace 1310 acoplado a espectro de masas marca Thermo Scientific ISQ 7000 para realizar las mediciones utilizando las condiciones de inyección mediante el método split con una relación de 1:10 siendo la temperatura del inyector 280°C y la del detector 200°C, el volumen de dicha inyección fue de 0,5 uL de la muestra preparada.

La separación cromatográfica se realizó inicialmente en una columna HP-INNOWax de marca Agilent y como gas portador se utilizó Helio 99,99% de pureza, con un flujo de 0,8 mL/min, la temperatura inicial del horno se programó 120°C durante 10 minutos con un aumento de temperatura de una velocidad de 10°C/minuto hasta los 200 grados y una segunda rampa con aumento de temperatura de 5°C/minuto hasta los 250°C, temperatura que permaneció durante 35 minutos. La detección se realizó en modo de barrido desde 35 hasta 500 m/z.

Además cabe recalcar que el método antes descrito fue con el cuarto en realizarse y que con el que se obtuvo los mejores resultados.

Capítulo tres

Resultados y discusión

3.1 Rendimiento de aceite de las semillas de maní de árbol

En la tabla 3, para la especie *Caryodendron orinocense*, se presenta el rendimiento de la extracción con el peso de cada cartucho colocado en prensa.

Tabla 3

Caryodendron orinocense. Extracción: 3 h. Molido: fino

Muestra	Materia prima (g)	Aceite (g)	Rendimiento (%)
1	304,55	99,33	32,61
2	301,43	99,98	33,16
3	182,42	58,12	31,86

Nota. Rafael Maldonado Y

Este es el primer reporte sobre el rendimiento de la semilla de *Caryodendron Orinocense* mediante prensado mecánico en frío obteniendo un rendimiento promedio de 32,54% con base a la semilla seca y molida.

En el estudio realizado por Cisneros (2006) en la ciudad de Bogotá demuestra que la semilla de maní de árbol presenta un rendimiento del 29,76% de aceite con respecto al peso total de la semilla usando el método de prensado mecánico en frío.

Resultado la inquitud de la variabilidad del rendimiento y se sugiere que la razón es la presión a la cual se encontraba sometida la semilla para su extracción, otra posible razón de este desfase de 2,78% en el rendimiento es la variabilidad propia de la semilla en el Ecuador con respecto a la colombiana de acuerdo al sustrato o *terroir* de la planta generando así este rendimiento superior. Además diversos autores registran un rendimiento muy superior de hasta un 49% mediante el método de extracción Soxhlet.

3.2 Identificación de ácidos grasos

El ácido linoléico es considerado un ácido graso esencial nutricionalmente hablando y por lo tanto de vital importancia en especial para el cuidado de la piel según Perez (1999) así como ayuda en la prevención en los procesos naturales del cuerpo como la el de la pérdida de agua a través de la epidermis a la atmósfera. Además según Jakobsen (2009) este mismo ácido se presenta como un agente activo como prevención de anomalías cardiovasculares.

Los ácidos grasos mayoritarios presentes en el aceite de maní de árbol (*Caryodendron orinocense*) fueron: Ácido linoléico (70.10%), Ácido oléico (15.42%), Ácido palmítico (7.81%), Ácido esteárico (3,67%), Ácido alfa linoléico (2.85%), Ácido mirístico (0.08%) y Ácido laúrico (0.06%).

Los resultado reportados por Ortega (2014) para el aceite de semilla de maní de árbol fueron: Ácido linoléico (85.59%), Ácido palmítico (10.15%) y Ácido esteárico (3.38%) como aceites mayoritarios.

En la siguiente tabla se expresan los resultados comparativos entre el trabajo realizado por Ortega (2014) de la semilla de maní de árbol así como los estudios presentado por Perez *et al* (1999) sobre el olivo (*Olea Europaea*) la especie europea referente en lo que a producción de aceite se refiere.

Tabla 4

Tabla comparativa: Coryodendron orinocense y Olea Europaea

Ácidos grasos	Número lipídico	Ortega (2014)	Perez (1999)	Datos de análisis
Ácido mirístico	C 14:00	0.04 %	-	0,08%
Ácido palmítico	C 16:00	10.15%	9.52%	7,81%
Ácido esteárico	C 18:00	3.38%	2.17%	3.38%
Ácido oléico	C 18:01	-	11.80%	15.42%
Ácido linoléico	C 18:02	85.59%	75.13%	70.10%

En la tabla comparativa se contrasta el contenido de diferentes ácidos grasos, sobre todo en la similitud en el porcentaje obtenido por Ortega en ácidos como el esteárico o el mirístico que se presentan de manera minoritaria. En el caso del ácido linoleico se encuentra

una diferencia representativa del 15.49%, porcentaje similar de ácido oléico reportado en los análisis por GC-MS en el presente trabajo de titulación.

3.3 Actividad antioxidante de las semillas de maní de árbol

En el presente trabajo de investigación tanto en el método DPPH así como en el ABTS no han registrado actividad antioxidante en la dosis máxima recomendada de análisis de 4000 ug de muestra/ml, este resultado contrasta con los obtenidos por Ortega (2014) en el que detalla una actividad antioxidante superior incluso a la del aceite de oliva sugiriendo una oportunidad para la implementación en productos de uso cosmético.

El posible resultado opuesto al encontrado en bibliografía puede estar dado por la temperatura de deshidratación de las semillas en el proceso de obtención del aceite vegetal, destruyendo así los componentes antioxidantes, si bien no se ha registrado la temperatura utilizada en el trabajo de Ortega queda registro que el proceso de secado de las semillas en los laboratorios de la Universidad Técnica Particular de Loja fue de 55°C durante 36 horas en la primera extracción y de 45°C durante 50 horas en la segunda extracción.

Se optó por los métodos ABTS y DPPH debido a que presentan buena estabilidad y aunque también presentan diferencias entre sí, estas son necesarias para poder evidenciar así de mejor manera la actividad antioxidante que presenta la grasa del maní de árbol.

Conclusiones

El rendimiento de la semilla de maní de árbol al utilizar el método de extracción por prensado mecánico en frío es del 32,54% y difiere del método Soxhlet en la eficiencia de extracción con referencia en bibliografía de hasta un 49%.

La caracterización química del aceite vegetal de maní de árbol (*Caryodendron orinocense*) obtenido a partir de las semillas, se identificaron Ácido linoléico (70.10%), Ácido oléico (15.42%), Ácido palmítico (7.81%) como ácidos grasos mayoritarios.

La actividad antioxidante del aceite de *Caryodendron orinocense* resulta negativa en este estudio y contrasta con la elevada actividad presente en aceite de oliva.

Recomendaciones

Se sugiere continuar con el análisis de los esteroides mediante otras metodologías por cuanto la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas requiere el uso de temperaturas relativamente limitadas, y los métodos para determinación de esteroides exigen temperaturas no inferiores a 320°C. Actualmente las columnas con las que se trabajan en la universidad están acondicionadas a una temperatura máxima de 250°C, se recomienda entonces utilizar por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) o realizar la purificación de esteroides con la posterior identificación mediante técnicas espectroscópicas como resonancia magnética nuclear.

Se recomienda en cuanto a la extracción del aceite utilizar una temperatura aún menor a los 45°C propuestos en la segunda extracción de aceite por cuanto destruye los compuestos antioxidantes presentes en el aceite de maní de árbol.

Referencias

Avila, L. M., & Díaz-Merchán, J. A. (2002). *Sondeo del mercado mundial de Inchi (Caryodendron orinocense)*. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt..

Cabezas-Zábala, C. C., Hernández-Torres, B. C., & Vargas-Zárate, M. (2016). Fat and oils: Effects on health and global regulation. *Revista de la Facultad de Medicina*, 64(4), 761-768.

Cisneros Torres, D. E., & Díaz Hernández, A. D. R. (2006). Obtención de aceite de la nuez *Caryodendron orinocense* originaria del departamento del Caquetá en la Planta Piloto de la Universidad de La Salle.

Durán Agüero, S., Torres García, J., & Sanhuesa Catalán, J. (2015). Aceites vegetales de uso frecuente en Sudamérica: características y propiedades. *Nutrición Hospitalaria*, 32(1), 11-19.

Flores, J., White, B. M., Brea, R. J., Baskin, J. M., & Devaraj, N. K. (2020). Lipids: chemical tools for their synthesis, modification, and analysis. *Chemical Society Reviews*, 49(14), 4602-4614.

Guala, M. S., Pérez, G. A., Barducco, L. P., Marsó, A. R., & Elder, H. V. (2012). Obtención de fracciones enriquecidas durante la extracción de aceites esenciales crudos. *Avances en Ciencias e Ingeniería*, 3(1), 151-157.

Gutiérrez, M. C., & Droguet, M. (2002). La cromatografía de gases y la espectrometría de masas: Identificación de compuestos causantes de mal olor. *Boletín Intexter Del Instituto de Investigación Textil y de Cooperación Industrial*, 122, 35–41.

Hamilton, R. J. (1998). *Lipid Analysis in Oils and Fats*. In Blackie Academic & Professional. <https://doi.org/10.1007/978-1-4613-1131-7>

Harris, D. C. (2007). Quantitative Chemical Analysis. In *Methods in Geochemistry and Geophysics* (Seventh ed). <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-40826-6.50009-1>

Jakobsen, M. U., O'Reilly, E. J., Heitmann, B. L., Pereira, M. A., Bälter, K., Fraser, G. E., Goldbourt, U., Hallmans, G., Knekt, P., Liu, S., Pietinen, P., Spiegelman, D., Stevens, J., Virtamo, J., Willett, W. C., & Ascherio, A. (2009). Major types of dietary fat and risk of coronary heart disease: a pooled analysis of 11 cohort studies. *The American journal of clinical nutrition*, 89(5), 1425–1432. <https://doi.org/10.3945/ajcn.2008.27124>

Navarrete Parraga, M., Zambrano Marcillo, S., Zambrano Sabando, W., Romero Pizarro, M., Racines Jaramillo, M., Paredes Puga, E., ... & Ortega Cedillo, D. (2020). Evaluación de la eficiencia de tres equipos de extracción de aceite con diferentes genotipos de palma aceitera (*Elaeis sp.*). *Enfoque UTE*, 11(2), 21-28.

Olguín, L., & Rodríguez, H. (2004). *Metodos en biotecnología*. In Instituto de biotecnología.

Ortega Álvarez, D. D. (2014). *Caracterización de la composición fitoquímica del aceite vegetal de la especie maní de árbol (Caryodendron orinocense H. Karst) e investigar su aplicación en emulsiones cosméticas* (Bachelor's thesis, Universidad Estatal Amazónica).

Parzanese, M. (2016). Tecnologías para la industria alimentaria. *Ultrasonidos. Ficha*, 19, 1-9.

Pássaro, C., Rivera, C., Román, M., Cardona, L., Muñoz, L., Gómez, D., Quiceno, J., & Rojas, L. (2016). *Guía Sobre Principios Básicos De Cromatografía Y Sus Aplicaciones*. SENNOVA, 1, 1–50.

Pons, G. A. (2015). Aceites vegetales, hacia una producción sostenible. *El Hombre y la Máquina*, (46), 9-19.

Revelou, P. K., Xagoraris, M., Alexandropoulou, A., Kanakis, C. D., Papadopoulos, G. K., Pappas, C. S., & Tarantilis, P. A. (2021). Chemometric Study of Fatty Acid Composition of Virgin Olive Oil from Four Widespread Greek Cultivars. *Molecules*, 26(14), 4151.

Wagner, H., & Bladt, S. (2001). *Plant drug analysis*.

Wong-Paz, J. E., Aguilar-Zárate, P., Veana, F., & Muñoz-Márquez, D. B. (2020). Impacto de las tecnologías de extracción verdes para la obtención de compuestos bioactivos de los residuos de frutos cítricos. *TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 23(1), 1-11.

Apéndice

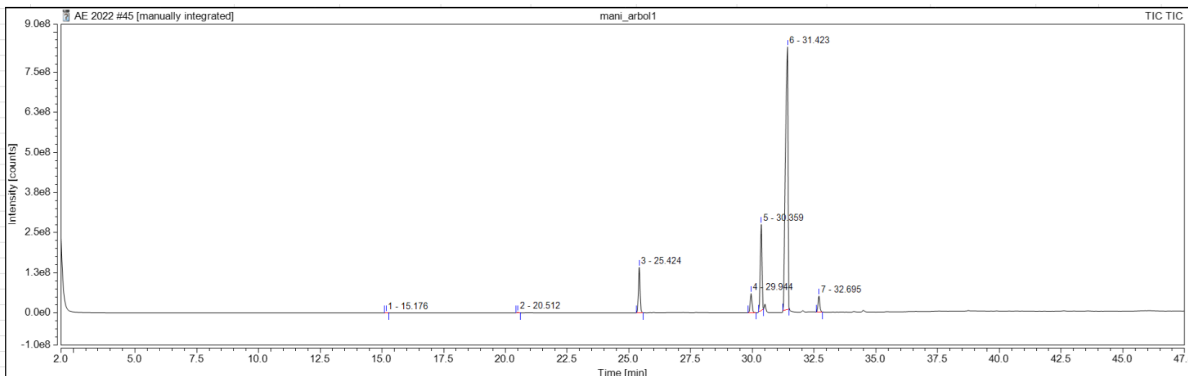
Apéndice A: Extracción del aceite de maní de árbol

		
Semilla de maní de árbol	Estufa de secado para deshidratar la semilla	Corteza de la semilla
		
Parámetros de deshidratación	Reducción de tamaño de partícula	Formación de cartucho
		
Cartucho en prensa	Prensado	Aceite recolectado


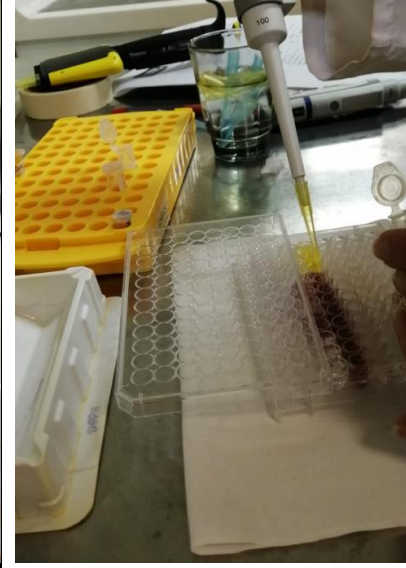

Apéndice B: Determinación de ácidos grasos

		
<p>Preparación de los estándares</p>	<p>Cromatógrafo Thermo Scientific Trace 1310</p>	<p>Momento de Inyección de estándares</p>


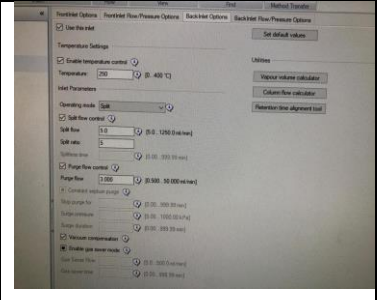
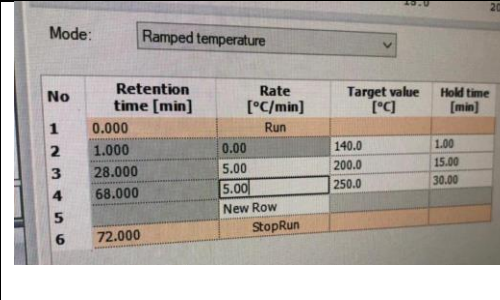
Apéndice C: Cromatograma



Apéndice D: Capacidad antioxidante

		
<p>Peso inicial del aceite de maní de árbol</p>	<p>Microplacas para determinar actividad antioxidante mediante método DPPH</p>	<p>Microplacas para determinar actividad antioxidante mediante método ABTS</p>

Apéndice E: Esteroles

		
<p>Preparación de estándares para la inyección</p>	<p>Parámetros del equipo</p>	<p>Rampas programadas para la inyección</p>

Apéndice F: Cromatograma de inyección de esteroles

