

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA

“Evaluación y caracterización de aceites fijos de las semillas de dos especies de la familia Annonaceae: *Annona muricata* (guanaba) y *Annona purpurea* (chincuya) para su aplicación industrial”



Presentado por  
Andrea Alejandra Alvarado Álvarez

Química Farmacéutica

Guatemala, Mayo de 2015

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA

“Evaluación y caracterización de aceites fijos de las semillas de dos especies de la familia Annonaceae: *Annona muricata* (guanaba) y *Annona purpurea* (chincuya) para su aplicación industrial”

Informe de Tesis

Presentado por

Andrea Alejandra Alvarado Álvarez



Para optar al título de  
Químico Farmacéutico

Guatemala, Mayo de 2015

## NÓMINA INTEGRANTES DE JUNTA DIRECTIVA

Dr. Rubén Dariel Velásquez Miranda	Decano
Licda. Elsa Julieta Salazar Meléndez de Ariza, M.A.	Secretaria
Msc. Miriam Carolina Guzmán Quilo	Vocal I
Dr. Sergio Alejandro Melgar Valladares	Vocal II
Br. Michael Javier Mó Leal	Vocal IV
Br. Blanqui Eunice Flores De León	Vocal V

## ACTO QUE DEDICO A

- A DIOS:** Fuente inagotable de luz; por ser mi Universo, mi guía, por no abandonarme en ningún momento y por darme la sabiduría y fortaleza para culminar mi carrera y seguir adelante.
- A LA VIRGEN:** Por ser mi consuelo y mi madre en el Cielo, por protegerme, guiarme e interceder por mí en todo momento.
- A MI ESPOSO:** Victor Guillén, por tu apoyo incondicional, por tu amor y tiempo, por confiar en mí y darme la oportunidad de culminar mi carrera universitaria. Gracias por que contigo todo se hace más fácil, por creer en mí y siempre darme ánimos. Con mucho amor este triunfo lo celebramos juntos.
- A MI MADRE:** Marta Álvarez, por todos los sacrificios y esfuerzos, por animarme a ser mejor cada día, gracias por nunca abandonarme y siempre darme lo necesario, por apoyarme en todo momento, la que quiero y amaré y le estaré eternamente agradecida. Gracias mamita.
- A MIS HIJOS:** Isabella y Julio André, que son el tesoro más valioso e importante en mi vida, por ser la luz de mis ojos y hacerme tan feliz con su existencia. En especial a ti mi Isa, por todas esas noches de desvelo, sacrificios y compañía a lo largo de mi carrera, esto es por ti y para ti.
- A MIS HERMANAS:** Helen y Anita, este triunfo es también de ustedes, gracias por estar siempre en las buenas y en las malas, por el apoyo incondicional que me han brindado, siempre estaré con ustedes y que siempre nos una el amor de Dios.
- A MI SOBRINA:** Mía Valentina, por ser tan especial para mí, con especial cariño.
- A MI PAPÁ:** Luis Alvarado, por su cariño, apoyo y consejos en su tiempo.
- A MIS ABUELITOS:** Por su ejemplo de sabiduría, por el amor y consejos que me han brindado. Gracias por sus oraciones.
- A MIS TIOS:** Por su cariño y sus sabios consejos para motivarme.
- A MIS PRIMOS:** Con especial cariño.

## AGRADECIMIENTOS A:

- DIOS:** Por permitirme alcanzar esta meta, bendecir cada día mi vida y no dejarme que me diera por vencida.
- MI MADRE:** Por tu apoyo, consejos y siempre creer en mí.
- MI ESPOSO:** Por ser siempre mi soporte, porque no permitiste que me rindiera y siempre creer en mí. Te amo.
- MIS HIJOS:** Por ser mi motivación de lucha, mi motor, son lo más grande que la vida pudo darme.
- LA TRICENTENARIA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA:** Por brindarme el privilegio de egresar de sus aulas como una profesional.
- MI QUERIDA FACULTAD CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA:** Por ser el centro de enseñanza para desarrollarme como persona y como profesional.
- MI ASESORA:** Licda. Aylin Santizo, por su asesoría, amistad, por sus sabios consejos, por la paciencia y valioso tiempo que me brindó para la elaboración del presente trabajo de investigación. Gracias.
- MIS CATEDRÁTICOS:** Por ser guías y transmitir sus conocimientos con gran vocación, en especial a la Licda. Julia García, Licda. Aylin Santizo, Licda. Lucrecia de Haase, Licda. Raquel Pérez, Licda. Medinilla, Lic. Pablo Oliva, Dr. Óscar Cóbar, Dra. Sully Cruz por sus enseñanzas y apoyo.
- UNICAR:** Por los 6 meses de aprendizaje durante mi EPS, en especial a Licda, Sonia Gil, Silvia Torres, Luis y Elmer, por los momentos compartidos, apoyo y cariño. Gracias
- LICDA. SONIA GIL:** Por transmitirme sus conocimientos desinteresadamente, con gran vocación y dedicación, por su apoyo y amistad. Gracias.
- MIS AMIGOS:** Por su amistad sincera y desinteresada, por el apoyo que me brindaron, en especial a Jass, Ingrid, Yenni, Josué Domínguez, José Jerez, David Portillo; Luis González (Chito): por tu amistad y apoyo, que aunque no eres mi hermano de sangre, lo eres de corazón.

**A Diana Rezzio, Sofia Marroquín, David Portillo y Bryan Zavala,** por su apoyo incondicional para concluir este proceso, sin ustedes no lo hubiera logrado. Dios los bendiga. Gracias por todo.

**Proyecto de investigación Fodecyt 11-2010, Laboratorio Nacional de Salud y al departamento de Análisis Aplicado:** Por su apoyo y colaboración a esta investigación.

**A todas las personas que fueron y son parte de mi vida, gracias por compartir los buenos y malos momentos, alegrías y tristezas; Dios los bendiga.**

## ÍNDICE

<b>1. Resumen</b>	<b>1</b>
<b>2. Introducción</b>	<b>2</b>
<b>3. Antecedentes</b>	<b>4</b>
3.1. Aceites Fijos	4
3.1.1. Propiedades Físicas	6
3.1.2. Componentes	7
3.1.3. Clasificación de los Aceites fijos	10
3.1.3.1. Aceites secantes y no secantes	10
3.1.3.2. Por su origen: Animales, Vegetales y Marinos	11
3.1.3.3. Por su composición de ácidos grasos:	
Saturados e Insaturados	14
3.1.4. Obtención de los aceites fijos	19
3.1.4.1. Procesos de obtención: Ventajas y Desventajas	20
3.1.5. Calidad de los Aceites	21
3.1.5.1. Características Analíticas	22
3.1.6. Usos	24
3.2. Antecedentes de las Especies de la familia Annonaceae en estudio	26
3.2.1 Descripción del género Annona	26
3.2.2. Origen	28
3.2.3. Clasificación Taxonómica	28
3.2.4. Valor alimenticio	29
3.2.5. Distribución Geográfica en Guatemala	29
3.2.6. Ficha técnica	30
3.3. Estudios Previos de Aceites Fijos	30
<b>4. Justificación</b>	<b>33</b>
<b>5. Objetivos</b>	<b>34</b>
<b>6. Materiales y Métodos</b>	<b>35</b>

7. Resultados	64
8. Discusión de Resultados	72
9. Conclusiones	88
10. Recomendaciones	89
11. Referencias	90
12. Anexos	94

## 1. RESUMEN

El fruto de la *Annona purpurea* se colectó en la Ecoparcela El Kakawatal Samayac, ubicada en el departamento de Suchitepéquez, y las semillas de la *Annona muricata* las cuales eran material de desecho se recolectaron de una industria productora de helados la cual se encarga de colectar el fruto en los departamentos de Santa Rosa y Jutiapa los cuales son los mayores productores de anonas del país; las muestras de material vegetal fueron procesadas conforme a técnicas convencionales de secado y molienda. Se retiró la pulpa con la ayuda de un colador, luego se realizaron lavados sucesivos para la separación de las semillas. Se procedió al secado de la muestra en un horno de convección a temperatura inferior a 30° C hasta reducir la humedad a un valor menor del 10%, para luego ser almacenadas en bolsas selladas debidamente identificadas.

El aceite obtenido de las dos especies de anonas investigadas, se extrajo de las semillas de cada fruto, mediante la extrusión en frío por medio de la prensa CARVER, modelo C serie N 24000 536.

Luego de obtener el aceite fijo de las dos especies de anonas, se procedió a evaluar sus características organolépticas como color y apariencia; características fisicoquímicas, por medio de pruebas como pH, densidad o gravedad específica, índice de refracción, viscosidad, punto de fusión, punto de humeo, prueba de frío, índice de yodo, índice de saponificación, determinación de rancidez. Así mismo, se determinó el perfil de ácidos grasos a través de cromatografía de gases.

Según los resultados obtenidos se puede concluir que los aceites en estudio pueden utilizarse en la industria de jabones, tensoactivos, cosméticos, productos farmacéuticos, pinturas, barnices, caucho, velas y ceras, desinfectantes, insecticidas, plásticos, lubricantes y emulgentes.

## 2. INTRODUCCIÓN

Los aceites vegetales utilizados hoy en día han sido uno de los problemas de salud más grande a nivel nacional e internacional ocasionando obesidad, obstrucción en las arterias y otros problemas de salud, debido a su gran contenido de colesterol; así mismo, no solo son un problema de salud humana sino que también de contaminación ambiental debido a que los aceites utilizados los desechamos en los drenajes, ríos, mares, tierra, ocasionando daños ambientales.

Los aceites fijos son extraídos, en su mayoría de las semillas o de la pulpa de algunos frutos. Además de su potencial energético, poseen un valor nutritivo por su contenido en ácidos grasos esenciales y en vitaminas liposolubles. El ser humano utiliza los aceites vegetales en la terapéutica y en la estética para proteger, nutrir y aromatizar, para la elaboración de los productos para el cuidado corporal, debido a que son emolientes y lubricantes naturales para la piel. Las características a tomar en cuenta para determinar la calidad de un aceite ya sea para consumo humano como para la industria es el grado de acidez, estado de oxidación, análisis sensorial de las características organolépticas como el olor y sabor. Desde el punto de vista de la salud, el “aceite ideal” debe ser aquel que contenga el mínimo contenido de grasas saturadas, mayor cantidad de grasas monoinsaturadas y poliinsaturadas, mínima o cero contenido de grasas trans y no debe contener colesterol. Los mejores aceites empleados en cocina deben ser aquellos que poseen un alto punto de humo, es decir, la temperatura a la cual el aceite comienza a humear, por lo que los aceites deben permanecer estables a altas temperaturas y deben ser aceites bajos en grasas saturadas. (Silva, 2012)

Guatemala es un país básicamente agrícola, por lo tanto el suelo es el recurso más abundante y con mayor facilidad de explotación que posee. Actualmente, la demanda por los productos naturales provenientes de plantas y animales es muy

grande, y cada día se utiliza una gran variedad de aceites fijos y esenciales en cosmética, terapéutica, cocina e industria.

El presente estudio se realizó con la finalidad de conocer las aplicaciones del aceite fijo de las especies de Anona y así determinar si poseen alguna aplicación para la alimentación como aceite comestible o bien para la industria para la elaboración de jabones, pinturas, insecticidas o para la producción de biodiesel, debido a que el aceite residual puede ser utilizado para la producción del mismo; con el propósito de ampliar los conocimientos sobre los productos naturales para su potencial aplicación terapéutica, alimenticia e industrial.

### 3. ANTECEDENTES

#### 3.1. Aceites fijos

Los aceites fijos, son todos los aceites que se obtienen de ciertas plantas y que a diferencia de los aceites esenciales son grasos, densos y no volátiles. Existen los aceites volátiles o esenciales que se extraen del grupo de las especies aromáticas. El grupo de oleaginosas comprenden solo las que se utilizan para extraer aceites fijos. (Ganduglia, p. 180)

Los aceites fijos y las grasas son mezclas de ésteres de glicerilo de los denominados ácidos grasos superiores, es decir, los ácidos alifáticos de alto peso molecular, sobre todo los ácidos palmítico, esteárico y oleico. De hecho, cada uno de los ésteres de glicerilo a menudo se denominan *glicéridos* (Gennaro, p 477).

La diferencia de consistencia entre los aceites fijos y las grasas se debe a las proporciones relativas de ésteres de glicerilo líquidos y sólidos existentes. Los aceites fijos contienen una proporción relativamente elevada de glicéridos líquidos (poliinsaturados), como oleato de glicerilo, mientras que las grasas son bastante ricas en glicéridos sólidos (sobre todo saturados), como el estearato de glicerilo.

Los glicéridos de ácidos grasos insaturados tienen menor punto de fusión que los ácidos saturados con la misma cantidad de átomos de carbono. Aunque casi todos los aceites vegetales son líquidos a temperatura ambiente y la mayor parte de las grasas animales son sólidas, existen notables excepciones, por ejemplo la manteca de cacao (sólida) y el aceite de hígado de bacalao (líquido).

Los aceites fijos son muy diferentes de los volátiles. Desde el punto de vista físico los primeros son no volátiles en condiciones habituales (de allí el nombre de fijos), a diferencia de los últimos, que como implica el nombre son volátiles. En lo que respecta a su composición, los aceites volátiles son muy diferentes entre sí; pero como grupo difieren de los aceites fijos por no contener ésteres de glicerilo. Los aceites volátiles también se denominan aceites etéreos o esenciales. (Gennaro, p 477).

Vásquez (2012), expresa que los aceites fijos se encuentran en las semillas y en los frutos de donde son extraídos por presión. El primero que se obtiene es el más puro y se le distingue con el nombre de aceite virgen; el que sigue está más alterado por la mezcla de otros principios contenidos en el fruto sometido a la presión. El mucílago más o menos abundante en las semillas, es la sustancia que altera la pureza del aceite por su mezcla con él.

Los aceites fijos son empleados la mayor parte para alimentos, los aceites volátiles solo sirven en las artes. El aceite fijo necesita un alto grado de calor para evaporarse; los aceites volátiles se disipan en el aire a la temperatura ordinaria de la atmósfera y se exhalan por completo. La propiedad que tienen los aceites de formar jabones les es exclusiva, pues muchas otras sustancias animales y vegetales la tienen igualmente, así que lo que se llama aceite volátil es un aroma líquido o concreto. Casi todos los aceites tienen color y conservan más o menos los principios con los que se hallaban en unión en el fruto.

Ganduglia (2009), expresa que los aceites fijos se vuelven más rancios cuanto más mucílago contienen. Los aceites fijos son muy poco secativos, pero existen los que combinados con óxidos metálicos

adquieren esta propiedad, lo que da mucha extensión para su uso; debido a que con esta propiedad se les puede emplear como barniz para cubrir los cuerpos que se quieren preservar del agua y del aire; y como excipiente de los colores que se quieren dar con el pincel sobre telas, madera y metales.

### 3.1.1. Propiedades Físicas

Gennaro (2003), indica que los aceites fijos y las grasas tienen propiedades físicas características; son grasos al tacto y dejan una mancha aceitosa permanente en papel filtro; son más livianos que el agua e insoluble en ese medio, pero son solubles en éter, cloroformo y algunos otros solventes no miscibles con agua; algunos, como el aceite de ricino, son solubles en alcohol.

Cuando se los purifica, los aceites fijos y las grasas son casi incoloros y tienen olor y sabor agradables, poco diferenciados. Por lo general, el color amarillento de las grasas se debe a la presencia de caroteno, una de las provitaminas A.

Si se someten a calor moderado, las grasas se licuan y los aceites se tornan menos viscosos; ante el calor fuerte se descomponen, con producción de vapores inflamables acres, que cuando se encienden arden con llama de hollín. La acridez de un aceite fijo o grasa sobrecalentados se debe a gran parte a la formación de *acroleína* (propenal).

La propiedad común a todas las grasas y los aceites fijos es su tendencia a la hidrólisis, para dar glicerol y los ácidos grasos representativos de la grasa o el aceite. La reacción es muy lenta sin catalizadores; por lo general se acelera con altas temperaturas y altas

presiones y por la presencia de ácidos o álcalis. Si se utilizan bases, los ácidos liberados se convierten automáticamente en las correspondientes sales metálicas. Dado que estas sales se suelen llamar jabones, se denomina *saponificación* a la hidrólisis de grasas y aceites fijos catalizada por álcalis. También se usa el término para referirse a la hidrólisis de cualquier tipo de éster, sin tener en cuenta su origen. Muchas enzimas naturales también catalizan la hidrólisis de grasas y aceites fijos; se denominan *lipasas*. Un ejemplo importante es la esteapsina del jugo pancreático humano.

Todos los procesos químicos enzimáticos se aceleran al aumentar la temperatura. Se acepta que dentro de unos límites, la velocidad de reacciones se dobla al aumentar 10°C la temperatura. Por este motivo es fácil comprender que “una grasa calentada tiende a degradarse rápidamente, en especial si en ella hay sustancias o residuos que actúan como catalizadores o potenciadores de la alteración”. (McMurry, p 78).

### 3.1.2. Componentes

Los aceites y grasas naturales están compuestos básicamente por mezclas complejas de triacilgliceroles con cantidades menores de otros lípidos. Los aceites y grasas se diferencian sólo por sus propiedades físicas, se consideran grasas a las mezclas lipídicas que permanecen sólidas a la temperatura ambiente; y aceites las que en las mismas condiciones se hallan en estado líquido. Los lípidos incluyen monoglicéridos, diglicéridos, triglicéridos, esteroides, terpenos, alcoholes grasos y ácidos grasos.

Las grasas también son componentes estructurales del cerebro y de las membranas. A continuación se presentan los ácidos grasos más comunes:

**Tabla No. 1. Aceites grasos más comunes**

Ácidos Grasos Comunes				
Nombres químicos y descripciones de Ácidos Grasos Comunes				
Nombre Común	Carbonos	Enlaces Dobles	Nomenclatura Química	Fuentes
Ácido Butírico	4	0	ácido butanoico	mantequilla
Ácido Caproico	6	0	ácido hexanoico	mantequilla
Ácido Caprílico	8	0	ácido octanoico	aceite de coco
Ácido Cáprico	10	0	ácido decanoico	aceite de coco
Ácido Láurico	12	0	ácido dodecanoico	aceite de coco
Ácido Mirístico	14	0	ácido tetradecanoico	aceite de palmiste
Ácido Palmítico	16	0	ácido hexadecanoico	aceite de palma
Ácido Palmitoleico	16	1	ácido 9-hexadecenoico	grasas animales
Ácido Esteárico	18	0	ácido octadecanoico	grasas animales
Ácido Oleico	18	1	ácido 9-octadecenoico	aceite de oliva
Ácido Ricinoleico	18	1	ácido 12-hidroxi-9-octadecenoico	aceite de ricino
Ácido Vaccénico	18	1	ácido 11-octadecenoico	mantequilla
Ácido Linoleico	18	2	ácido 9,12-octadecadienoico	aceite de semilla de uva
Ácido Alfa-Linolénico (ALA)	18	3	ácido 9,12,15-octadecatrienoico	aceite de lino (linaza)
Ácido Gamma-Linolénico (GLA)	18	3	ácido 6,9,12-octadecatrienoico	aceite de borraja
Ácido Araquídico	20	0	ácido eicosanoico	aceite de cacahuete, aceite de pescado
Ácido Gadoleico	20	1	ácido 9-eicosenoico	aceite de pescado
Ácido Araquidónico (AA)	20	4	ácido 5,8,11,14-eicosatetraenoico	grasas del hígado
EPA	20	5	ácido 5,8,11,14,17-eicosapentaenoico	aceite de pescado
Ácido Behénico	22	0	ácido docosanoico	aceite de colza (canola)
Ácido Erucico	22	1	ácido 13-docosenoico	aceite de colza (canola)
DHA	22	6	ácido 4,7,10,13,16,19-docosahexaenoico	aceite de pescado
Ácido Lignocerico	24	0	ácido tetracosanoico	pequeñas cantidades en muchas grasas

Fuente: Ganduglia, F. (2009). Manual de biocombustibles.

En muchos aceites fijos son comunes tres glicéridos, a saber *oleína*, *pamitina* y *estearina*.

La *oleína* es el trioleato de glicerilo [ $C_3H_5(C_{18}H_{33}O_2)_3$ ], un líquido a temperatura ambiente. Es el constituyente principal del aceite de almendras obtenido por presión, la grasa de cedo y gran parte de las

grasas animales más fluidas y los aceites de origen vegetal. Éste se separa y purifica por presión en frío, mientras que los demás constituyentes quedan retenidos por su falta de fluidez a bajas temperaturas.

La *palmitina* es el tripalmitato de glicerilo  $[C_3H_5(C_{18}H_{31}O_2)_3]$ . Este compuesto es sólido a temperatura ambiente (punto de fusión  $60^\circ C$ ) y predomina en los aceites de palma y coco.

La *estearina* es el triestearato de glicerilo  $[C_3H_5(C_{18}H_{35}O_2)_3]$ . Este compuesto se funde a  $71^\circ C$ , predomina en muchas de las grasas sólidas, y se puede separar por presión bajo condiciones de temperatura controladas, mediante las que se extrae la oleína y la palmitina.

La oleína y los ésteres de glicerilo de otros ácidos insaturados se pueden convertir en estearina por *hidrogenación* en presencia de un catalizador, como por ejemplo los de semillas de algodón, maíz, poroto de soja y maní, se transforman (endurecen) comercialmente mediante este proceso para dar ácidos sólidos. Por hidrogenación parcial se puede variar la consistencia de estos aceites endurecidos dentro de amplios límites. Sin embargo, en la actualidad se piensa que este proceso, utilizado en la fabricación de muchas margarinas, es una dudosa bendición, pues produce algunos aceites insaturados trans, que carecen en parte de la acción buscada en las dietas bajas en grasas y colesterol para casos de hipercolesterolemia.

Los glicéridos de un aceite fijo pueden ser simples o mixtos. En los glicéridos simples, como la oleína, la palmitina o la estearina, los tres grupos de ácidos grasos son idénticos. En los glicéridos mixtos, más frecuentes, hay más de un ácido graso. Debido a las numerosas

combinaciones posibles de glicéridos mixtos a menudo los distintos aceites con propiedades físicas muy diferentes presentan el mismo análisis químico.

Si bien se han sintetizado monoglicéridos, diglicéridos y triglicéridos que contienen una, dos o tres moléculas de ácidos grasos, respectivamente, esterificados con una molécula de glicerol, en la naturaleza sólo se encuentran triglicéridos. Los ácidos grasos naturales son casi todos de cadena recta contienen un número par de átomos de carbono ( $C_4$  a  $C_{26}$ ).

De todos los ácidos grasos los de más amplia distribución son el esteárico, el palmítico y el oleico. El ácido esteárico se encuentra sobre todo en las grasas animales, no obstante en ocasiones es un constituyente importante de los aceites vegetales. Los ácidos grasos saturados inferiores a  $C_{12}$  se encuentran en la leche de los mamíferos, si bien la grasa de la manteca contiene todos los ácidos grasos de número par, desde  $C_4$  hasta  $C_{18}$ , además del oleico.

Los aceites y las grasas sometidos a presión a ciertas temperaturas pueden fraccionarse en parte en los glicéridos que contienen. Al envejecer a menudo los aceites fijos desarrollan un precipitado de estearina que se vuelve a licuar con el calentamiento (Gennaro, p 477).

### 3.1.3. Clasificación de los aceites fijos

#### 3.1.3.1. Aceites secantes y no secantes

Gennaro (2003), señala que los aceites fijos se clasifican en secantes y no secantes. Cuando se exponen al aire, los aceites secantes sufren oxidación con formación de una película dura y resistente. El aceite

de lino es un ejemplo de esta clase de aceites secantes, que se usan sobre todo en la fabricación de pinturas y barnices. Son ejemplos el aceite de oliva y el aceite de almendras. La calidad secante se debe a la presencia de ácidos grasos insaturados definidos, por ejemplo los ácidos linoleico y linolénico.

Luna (2007), menciona que el grado de insaturación que presenten los ácidos que constituyen los glicéridos de un aceite, o sea la cantidad de dobles ligaduras, determinará el grado de secantabilidad o poder secante de un aceite. Los que poseen mayor cantidad de dobles ligaduras al ser expuestos al aire se oxidan (absorben  $O_2$ ) espesándose y endureciéndose rápidamente. Los que poseen esta propiedad se denominan secantes y generalmente son de uso industrial. El más representativo es el aceite de lino, luego le sigue el tung. Uno de los usos del aceite del lino es en la industria de las pinturas.

Los aceites que bajo la acción de oxígeno del aire se oxidan, es decir que se espesan y endurecen lentamente y no por completo, se llaman semisecantes. Aquí se encuentra la mayoría de los aceites comestibles. Por ejemplo: soya, girasol, algodón, etc. Por último, los aceites no secantes no se solidifican en absoluto, ni siquiera después de largo tiempo. Ejemplo: aceite de oliva, maní.

### 3.1.3.2. Por su origen: animales, vegetales y marinos

Según Bailey (1961), describe que los aceites por ser constituyentes esenciales de todas las plantas y animales, están ampliamente distribuidos en la naturaleza. Todas las especies de plantas y animales producen alguna clase de aceite, durante su ciclo vital.

Sin embargo, las plantas y animales que producen aceite en cantidad suficiente y en forma tal, como para constituir un artículo comercial, son relativamente pocas en número.

#### 3.1.3.2.1. Origen Vegetal

Bailey (1984), describe que la mayor fuente de aceite está constituida actualmente por las semillas de las plantas anuales, tales como el lino, soya, algodón, cacahuate, etc. Algunas de estas plantas en especial el ricina y las variedades oleaginosas del lino, se cultivan solamente por su aceite; otras, por ejemplo la soya y el cacahuate, producen semillas que no son solamente fuente de aceite sino que también se usan ampliamente como alimentos.

Arango (2002), menciona que los aceites fijos se encuentran sobre todo en las semillas, y son las sustancias de reserva para la germinación, se encuentran además en las células en forma de granulaciones, acomplejados con lipoproteínas o en pequeñas gotas en el citoplasma; *in situ*, se puede evidenciar con el reactivo Sudán III dando una coloración roja. Las grasas y aceites comestibles se obtienen de plantas comestibles (CODEX STAN 192-1995).

#### 3.1.3.2.2. Origen animal

Bailey (1984), menciona que las grasas de los animales terrestres proceden casi totalmente de tres clases de animales domésticos: cerdos, vacas y ovejas. Existen otros animales, tales como las gallinas, criados en gran número, que tienen el cuerpo de poco tamaño y se consumen normalmente sin las partes grasas, que se

separan para obtener una grasa pura. Los animales salvajes no son una considerable fuente de grasas.

Todas las grasas y aceites de origen animal, deben derivar de animales que se encuentren en buenas condiciones de salud en el momento del sacrificio y estén destinados al consumo humano. (CODEX STAN 192-1995).

#### 3.1.3.2.3. Origen marino

Bailey (1984), menciona que en el mar también se produce un considerable volumen de aceite. Los aceites de pescado proceden principalmente de los peces más pequeños y numerosos, tales como la sardina, arenque y sáballo. La mayor parte de los peces utilizados para la obtención de aceite se pescan en la zona norte de los océanos Atlántico y Pacífico. Los aceites de pescado, aunque son grasas animales, no son normalmente subproductos de la preparación del cuerpo como comestible. Todo el pescado se manipula para obtener aceite como producto primordial. La producción de aceite de pescado es sobrepasada por la del de ballena, que en condiciones normales es del mismo orden, en volumen, que la de la mayor parte de los aceites vegetales. Las ballenas se pescan, principalmente, por su aceite y la mayor parte se obtiene por barcos que operan en las regiones Antárticas.

Los aceites líquidos que proceden de especies marinas, como el aceite de ballena y aceites de pescado, por su alto grado de Insaturación, en su forma natural se consideran como no comestibles en casi todo el mundo y se convierten en aceites

comestibles por hidrogenación y desodorización transformándose en grasas sólidas (Bailey, 1984).

Los aceites de origen marino se distinguen por la diversidad de sus ácidos grasos no saturados. Contienen grandes cantidades de estos ácidos, con cadenas de 15, 20 y 22 átomos de carbono, además de los  $C_{18}$  comunes con otras grasas; algunos de los ácidos  $C_{20}$  y  $C_{23}$  contienen más de tres enlaces dobles. Este grupo comprende tanto los aceites de pescado, como los de los mamíferos marinos. Estos aceites son los más baratos, destinándose, tanto a fines alimenticios, como para la fabricación de jabones y recubrimientos protectores, aunque en ninguno de estos campos se consideran como materia prima deseable.

Los aceites de hígados de pescados son muy valiosos, como fuentes de vitaminas A y D y se usan poco con fines industriales o comestibles (Bailey, 1984).

### 3.1.3.3. Por su composición de ácidos grasos: Saturados e Insaturados

Los ácidos grasos son compuestos carboxílicos terminales de cadena abierta alifática de  $C_8$  a  $C_{24}$ , pueden ser saturados o insaturados y con menor frecuencia cíclicos como el ácido hidnocárpico. (Arango p. 14).

Arango (2002), indica que en cuanto a la composición de los aceites fijos, las características de sus ácidos grasos se determinan luego de la saponificación completa y se pueden identificar por métodos cromatográficos: como la cromatografía en capa fina (CCF) o cromatografía gaseosa (CG) directamente o metilados.

Arango (2002), también hace mención que el principal criterio de clasificación de los aceites fijos vegetales es el grado de insaturación de ácidos grasos que los componen. Esta insaturación es función del número total de dobles enlaces y se mide por el índice de yodo; el cual permite clasificar los lípidos vegetales en cuatro grandes familias:

**Tabla No. 2**  
**Clasificación de los aceites fijos según el grado de Insaturación**

Índice de yodo	# aprox de =s/molec.	Familia	Ejemplos
<60	<1	<b>Grasas vegetales</b> (sólidas a temperatura ambiente)	Coco, palma, manteca de cacao
80-100	1	<b>Aceite</b> (de tipo oleico)	Cacahuete, oliva
100-130	1-2	<b>Aceites insaturados</b>	Girasol, soja, maní, algodón, colza
>170	>2	<b>Aceites secantes</b>	lino

Fuente: Arango (2002) Metabolitos primarios de Interés

Farmacognóstico

Los aceites ricos en ácidos grasos saturados, son sólidos a 25°C.

Los aceites secantes son sensibles a la oxidación produciendo enranciamiento.

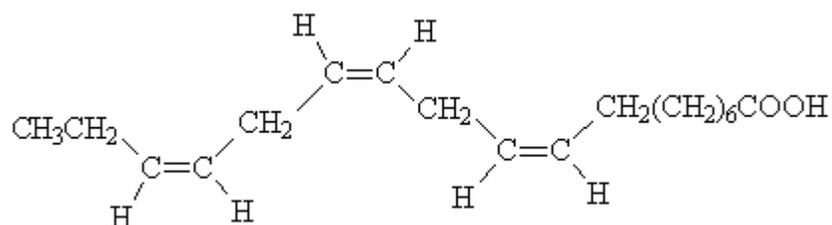
#### 3.1.3.3.1. Ácidos grasos poliinsaturados

En idéntica cantidad de carbonos a temperatura ambiente, los ácidos grasos insaturados son líquidos, y los saturados son sólidos. Los ácidos grasos insaturados tienen en la cadena dobles enlaces, en un número que va de 1 a 6. Los que tienen una sola

insaturación se llaman monoinsaturados, quedando para el resto el término de poliinsaturados. Llamaremos poliinsaturados a los ácidos grasos que contengan más de dos dobles enlaces y los que contengan uno sólo lo llamaremos monoinsaturados. Los ácidos grasos poliinsaturados son el linoleico, presente en las semillas de las uvas, y el linolénico, presente en el aceite de lino, y se consideran esenciales ya que el cuerpo humano no los puede sintetizar.

**Figura No. 1**

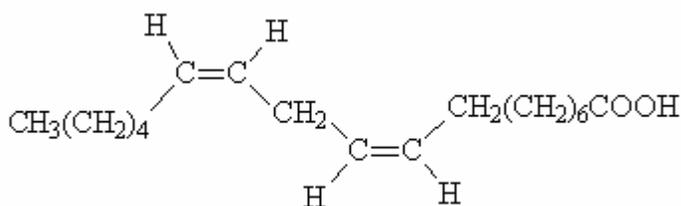
**Estructura Ácido linolénico**



Fuente: Morrison (1999).

**Figura No. 2**

**Estructura Ácido linoleico**



Fuente: Morrison (1999).

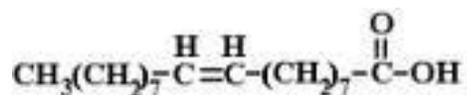
El uso cotidiano de estos aceites de origen vegetal, previene el colesterol alto en la sangre, se encuentra en pescados y mariscos (Omega 3).

### 3.1.3.3.2. Ácidos grasos monoinsaturados

Estos ácidos grasos presentan dobles enlaces carbono-carbono en un punto de la cadena de carbonos, se puede decir que son ligeramente más líquidos que los ácidos grasos con el mismo número de carbonos. Esto hace que no sean tan susceptibles al calor. Antiguamente, el grado de insaturación se determinaba con la adición de bromo o yodo a estos dobles enlaces. Hoy se realiza transesterificando con metanol y determinando el porcentaje de los ésteres metílicos concretos por cromatografía de gases. También se les llama vitamina F a estos ácidos grasos. Entre los ácidos grasos monoinsaturados podemos mencionar al ácido palmitoleico y el oleico.

**Figura No. 3**

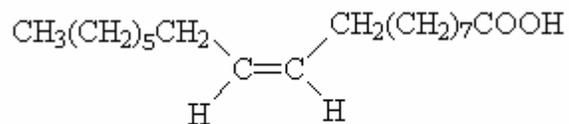
#### Estructura del ácido oleico



Fuente: Morrison (1999).

**Figura No. 4**

#### Estructura del ácido palmitoleico



Fuente: Morrison (1999).

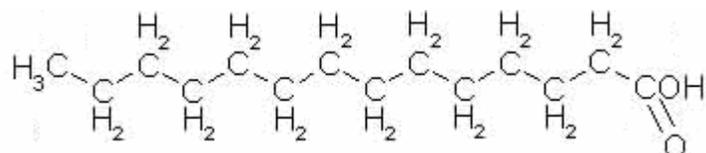
### 3.1.3.3.3. Ácidos grasos saturados

Los saturados son el Mirístico, Palmítico, y Esteárico (ver figuras) y en la vida cotidiana vienen dadas en las grasas animales, y en

algunos vegetales como el chocolate, la palta y el coco. También se pueden encontrar ácidos grasos saturados raros como el ácido behínico y el ácido araquídico. Como ya se ha indicado, los ácidos grasos comunes tienen la cadena con un número par de átomos de carbono. Sin embargo, las bacterias sintetizan frecuentemente ácido grasos con un número impar de átomos de carbono, que pasan a las grasas animales, tal es el caso del ácido margárico (17 carbonos).

**Figura No. 5**

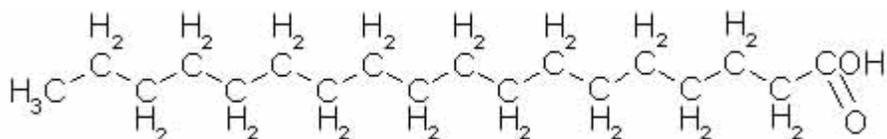
**Estructura del ácido mirísitico**



Fuente: Morrison (1999).

**Figura No. 6**

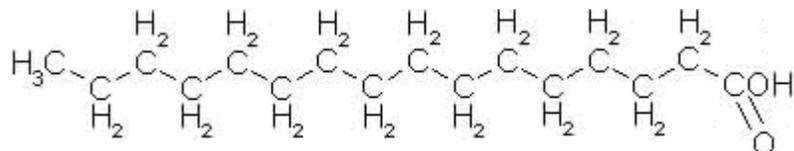
**Estructura ácido esteárico**



Fuente: Morrison (1999).

**Figura No. 7**

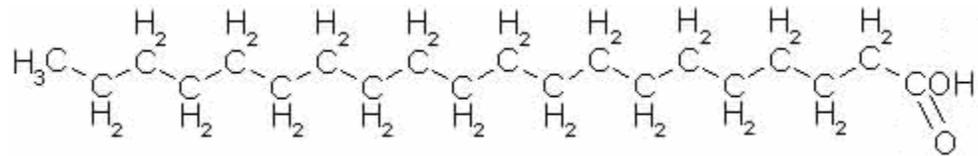
**Estructura del ácido palmítico**



Fuente: Morrison (1999)

Figura No. 8

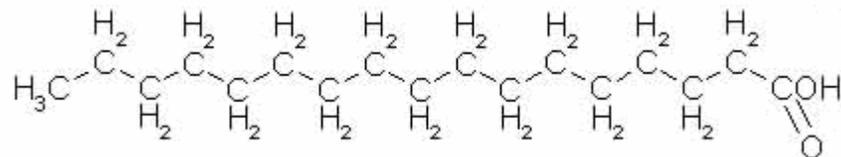
## Estructura del ácido araquídico



Fuente: Morrison (1999)

Figura No. 9

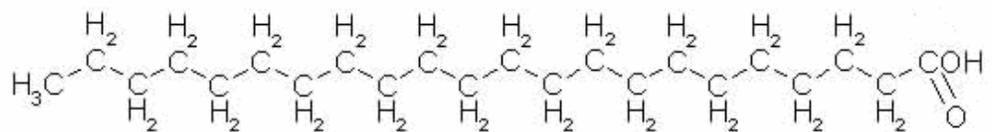
## Estructura del ácido margárico



Fuente: Morrison (1999)

Figura No. 10

## Estructura del ácido behínico



Fuente: Morrison (1999).

## 3.1.4. Obtención de los aceites fijos

La obtención de los aceites fijos se puede efectuar de varias formas, entre las que destacan: *Expresión en frío*, *extracción en caliente* y *extracción con disolventes*. Para los aceites en alimentación se debe

efectuar luego de la extracción, purificaciones por medio de refinación, decoloración y desodorización. (Arango, 2002)

Gennaro (2003), expresa que la mayor parte de los aceites fijos y las grasas se obtienen por expresión de los tejidos animales o vegetales que los contienen. Por lo general primero se tritura el material y luego se lo somete a presión hidráulica, y a calor si es necesario.

Los aceites obtenidos por el primer prensado por lo general tienen mayor valor comercial; así, por ejemplo, el aceite de oliva de primera presión se denomina *aceite de oliva virgen*. Pero en ocasiones el aceite exprimido de los tejidos vegetales es crudo y requiere purificación posterior, como es el caso de aceite de semillas de algodón. Los aceites fijos y las grasas a menudo se blanquean con tierra de Fuller o arcillas similares y posterior filtración.

Algunos aceites usados con fines técnicos no se obtienen por presión, sino por extracción de los tejidos vegetales por medio de solventes volátiles, que luego se recuperan (Gennaro, p 477).

#### 3.1.4.1. Procesos de obtención: Ventajas y desventajas.

La forma de extracción debe proteger al aceite de cualquier tipo de degradación, preservando sus componentes menores, que contribuyen significativamente a su calidad y a su buena conservación (Kiritsakis & Markakis, 1978).

La *extracción por presión (prensas continuas y discontinuas)*, es el método más antiguo, aunque tiene menores rendimientos. Para extraer el aceite del material que lo contiene por presión, las paredes de las células que lo contienen tienen que romperse (Kiritsakis & Markakis, 1978).

La *extracción sólida (líquido con solventes: hexano)*, se utiliza un sistema en el que la semilla y la pulpa son tratadas con un solvente (hexano), formando una micela, la cual posteriormente es destilada para separar el aceite y recuperar el solvente. (Franco, 2007). Los parámetros de extracción a considerar son el tamaño y espesor de los trozos de semilla o pulpa. La temperatura se debe controlar, debido a que valores superiores a 65°C llevarían a una excesiva presurización del extractor y posibles escapes de solvente; por el contrario temperaturas inferiores reducen la velocidad de extracción. La humedad de la materia prima debe estar entre el 9.5 y el 10.5% dado que a valores inferiores el material tiene tendencia a romperse. En gran escala, la extracción con disolventes es un medio más económico que la extracción por presión. La extracción con solventes se realiza cuando el uso final es de tipo industrial (Kiritsakis & Markakis, 1978).

### 3.1.5. Calidad de los Aceites

Luna (2007), hace mención que la calidad de los aceites fijos son de gran importancia para justificar el cultivo de la especie que lo provee en forma rentable. Existe una gran serie de propiedades e índices que en su conjunto revelan el grado de calidad y conservación del aceite. Entre las propiedades que definen la calidad de un aceite son: punto de fusión y de solidificación, densidad, índice de refracción, índice de acidez, índice de yodo, índice de peróxidos, índice de saponificación, entre otros.

Las diferentes pruebas físicas que se deben realizar a las muestras de un aceite de diferentes especies con referencia a los índices de calidad a

los que se deben someter los aceites para determinar si son o no comestibles se utilizan las normas COGUANOR. Se utilizan estas normas sobre otras normas idénticas, debido a que cada país en el mundo puede establecer los controles de calidad a los aceites dependiendo de sus propios intereses, y aquí en Guatemala dichas normas son las que por ley se deben aplicar y también son las que tienen un carácter legal.

Según COGUANOR los análisis que deben realizarse a los aceites y grasas comestibles son: determinación del índice de saponificación, determinación del índice de yodo (Método de Wijs), prueba de rancidez (Ensayo de Kreis), prueba de frío, determinación del punto de fusión (Método de Wiley), determinación del índice de peróxido, determinación del contenido de níquel, determinación del contenido de jabón, determinación del contenido de cuerpos grasos, punto de inflamabilidad (Método de copa cerrada).

Otros factores de calidad que se deben realizar a los aceites son: color, olor y sabor, materia volátil, impurezas insolubles, contenido de jabón, hierro, cobre (CODEX STAN 19).

La AOAC propone realizar a las grasas y aceites comestibles los siguientes análisis: determinación de arsénico, cobre, hierro, índice de peróxido, determinación de plomo, determinación de ácidos grasos libres y determinación del contenido de colesterol (determinación de materia insaponificable).

#### 3.1.5.1. Características analíticas

Como se mencionó anteriormente existen propiedades que definen la calidad de un aceite, entre los factores analíticos de mayor importancia para identificar los aceites fijos y así poder juzgar su calidad; estos son:

- 3.1.5.1.1. **Índice de yodo:** cantidad de gramos de monoclóruo de yodo, expresados como yodo, absorbido por 100 g de muestra, en condiciones definidas.
- 3.1.5.1.2. **Índice de saponificación:** cantidad de miligramos de hidróxido de potasio requeridos para neutralizar los ácidos libres y saponificar los ésteres de 1 g de muestra.
- 3.1.5.1.3. **Índice de acidez:** cantidad de miligramos de hidróxido de potasio requeridos para neutralizar los ácidos libres en 1 g de muestra.
- 3.1.5.1.4. **Índice de peróxidos:** cantidad de miliequivalentes de peróxido por 1000g de muestra, que oxidan el yoduro de potasio bajo condiciones de prueba. Indica el grado de envejecimiento en los aceites.
- 3.1.5.1.5. **Índice de materia insaponificable:** La materia insaponificable es la parte de una grasa que no puede usarse como base para jabones. (COGUANOR, 1982)

El índice de refracción, la gravedad específica, el color, el olor y el punto de congelación son poco importantes en la determinación de la pureza o la calidad. Algunos aceites, por ejemplo los de semillas de algodón o sésamo, se identifican mediante pruebas específicas, pero por regla general sólo es posible inferir la identificación de un aceite fijo después de considerar muchos factores físicos y químicos.

La cromatografía de gas (los métodos FAME) es un método útil para identificar los aceites fijos. Hay muchos métodos de cromatografía de gas que permiten separar los ácidos grasos libres o los metil ésteres de ácidos grasos y deducir la identidad del aceite fijo a partir del patrón cromatográfico. (Bailey, 1984)

### 3.1.6. Usos

El principal empleo de los aceites fijos es en alimentación aunque algunos tienen importante empleo en farmacia con acción terapéutica específica como el aceite de ricino y el de chaulomooogras, otros se usan como excipientes en solutos inyectables y preparaciones dermatológicas, además, ciertos aceites insaturados tienen poder hipocolesterolemiantes y antiarterioesclerosis (Arango, 2002 p. 18).

Gennaro (2003), también hace mención que las grasas y los aceites fijos contienen ciertos ácidos grasos insaturados esenciales en la nutrición humana, cuya carencia en la dieta produce eccema cutáneo y, en animales de experimentación, escamas en la piel, emaciación, necrosis y muerte prematura. Existen evidencias que avalan la postura de que las grasas (aceites) como el aceite alazor, de maíz, de semilla de algodón y de poroto de soja, que son ricos en ácido linoleico y otros ácidos insaturados, desempeñan un papel importante en la movilización y la utilización del colesterol sérico. Se ha propuesto la hipótesis que los aceites de oliva y de colza aportan con mayor eficacia una relación favorable de lipoproteínas de alta densidad/lipoproteínas de baja densidad (HDL/LDL). En combinación con una ingesta controlada de grasas con la dieta estos aceites pueden proporcionar una relación eficiente de colesterol con HDL y LDL capaz de asegurar una proporción favorable de colesterol sérico total/HDL, lo que tiene especial interés en la hipercolesterolemia que se suele observar en la aterosclerosis. Los aceites de maní y de sésamo tienen amplio uso en la preparación de inyecciones por vía intramuscular. Algunos aceites tienen aplicación medicinal; el aceite de castor se usa como catártico, el aceite de hígado de bacalao es un agente antirraquítico y el aceite de oliva es emoliente. Diversos

fosfolípidos (p. ej., lecitina) son auxiliares farmacéuticos para emulsiones parenterales.

Arango 2002, indica que en la fabricación de margarinas y mantequillas vegetales son empleadas muchas grasas en estado natural o aceites luego de la hidrogenación. Estas margarinas son emulsiones entre la fase grasa (82% de aceites) y fase acuosa (16% de agua o leche dependiendo del uso en cocina o mesa).

La fase grasa pueden ser aceites fluidos (líquidos a 15°C) como el aceite de colza, maní, girasol, etc.; o aceites sólidos ( $15^{\circ}\text{C} < \text{pf} < 44^{\circ}\text{C}$ ) como el aceite de palma, aceite de coco o de algodón hidrogenado. Las toratas o el marco que queda luego de extraer el aceite y eliminar las posibles sustancias tóxicas son útiles para preparar alimentos concentrados para animales.

Las sales de varios ácidos grasos son fungicidas, por ejemplo el undecilenato de cinc. Otros derivados de los glicéridos son los jabones y diversos compuestos tensioactivos relacionados que se emplean como detergentes y germicidas (Gennaro, p 479).

El consumo de los aceites fijos es inmenso en razón de los muchos usos que tienen; hace la base de los jabones blandos y duros según combinaciones realizadas con la potasa o sosa. Además forman la preparación principal que se da al algodón para poder fijar en él con más solidez los colores, en los talleres por medio del aceite suavizan y se regulan mejor los juegos de las máquinas ocasionando que se modere la debilitación destructora de los frotos.

### 3.2. Antecedentes de las Especies de la familia Annonaceae en estudio

#### 3.2.1. Descripción del género *Annona*

Pamplona (2002), menciona que el género *Annona*, con sus más de 120 especies, es el más importante de esta familia de plantas tropicales de Centroamérica, Anonáceas. De esas 120 especies, unas 20 se cultivan por sus frutos, pero tan solo cuatro tienen importancia alimentaria. Los términos “anón” o “anona” se usan popularmente para referirse a cualesquiera de los frutos de esta familia. La composición y las propiedades de estos frutos son muy similares a los de la chirimoya (*Annona cherimola* Mill). Las variaciones entre ellos se deben principalmente a su forma y sabor. Etimológicamente anona (nombre que se le da a la fruta) probablemente proviene del nombre popular Anón (nombre del árbol) (Cardiazabal, 1991).

En el período precolombino, los valles interandinos y algunas áreas similares en Mesoamérica fueron mantenidas por nuestros indígenas, para el cultivo de las anonas; ellos encontraron en estos frutales, adaptabilidad, variedad de sabores y gran valor nutritivo. Las tres especies más conocidas del género anona, son: *Annona muricata* (guanábana en español, graviola en portugués y soursop en inglés), *A. squamosa* (conocida como soncoya en nuestro país, sarumuyo o anón en español; ata o pinha en portugués y sugar apple en inglés) y *A. cherimola*, del Quechua chirimuya, conocida en español como anona o chirimoya, cherimoyer y custard apple en inglés, anona do Chile, fruta do conde o cabeza de negro en portugués, chérimole, corossol du Perou y cherimolier en francés, cherimoia, cherimoyabaum y perunischer fraschenbaum en alemán (García, 1956).

La anona es considerada una dádiva del Nuevo Mundo, los primeros conocedores fueron los pobladores del Sur y Mesoamérica. Esto se confirma por las reproducciones del fruto en los vasos de “terracotta” y otros artículos hallados en las sepulturas prehistóricas en Perú (García, 1956).

Bridg (2001), describe también que el género *Annona* comprende alrededor de 120 especies y algunos híbridos conocidos genéricamente como Atemoyas. Martínez & Martínez, (1999) indican que para Guatemala se reportan 11 especies diferentes de *Annona* siendo: Anona blanca (*A. diversifolia*), anona colorada (*A. reticulata*), sincuya (*A. purpurea*), anona chirimoya (*A. cherimola*), guanaba (*A. muricata*), anonillo (*A. glabra*), anona de monte (*A. scleroderma*), anona amarilla (*A. lutescens*), anonillo (*A. primigenia*), saramuya (*A. squamosa*) y (*A. macrophyllata*).

Villar (1998), menciona que Guatemala posee las condiciones climáticas ideales para cultivar estas especies, debido a que son cultivadas en ecosistemas húmedos tropicales. Cabe destacar que el número conocido de especies de la flora de Guatemala de la familia Annonaceae es de 31 especies.

Así mismo, Villar (1998), cita que se ha considerado, que habría muchas posibilidades de que géneros como la *Annona* se haya originado en la amplia comarca Asia-Europa y sólo a la postre hayan alcanzado territorios americanos como el nuestro.

Orellana & Martínez, 2001, indican que el género *Annona* se caracteriza por sus hojas en dos categorías; alternas, simples, enteras, finas o coriáceas, decíduas o persistentes y sin estípulas. Las flores son bisexuales, con frecuencia en tonos de color café y amarillo, solitarias

o en tubular. Los estambres son numerosos, aglomerados, con filamentos carnosos portando anteras largas y espirales. Los pistilos son muchos, con ovario súpero, de un óvulo, y están aglomerados en un receptáculo alargado. La fruta es grande, carnosa, estando formada por la fusión de los pistilos y los receptáculos.

La familia Annonaceae cuenta con 28 géneros y se estima que hay 2200 especies en el mundo. Entre ellas hay numerosos frutales, especialmente en los géneros *Annona* y *Rollinia*. La mayoría de las especies de *Annona* y *Rollinia* son originarias del Nuevo Mundo. Los indígenas cultivaron cuidadosamente muchas de ellas, en Mesoamérica, los valles interandinos, Amazonia y otros lugares. Existen tres especies, *Annona cherimola*, *A. muricata* y *A. squamosa*, marginales en varias regiones de América tropical; pero que en otras regiones ya se ha desarrollado la tecnología de su producción y el manejo del producto hasta tal grado que no pueden incluirse propiamente en esa categoría. Las técnicas conocidas y los cultivares seleccionados pueden extenderse a las regiones en que su cultivo está aún atrasado. Otras tres, *A. diversifolia*, *A. reticulata* y *A. scleroderma* en cambio, han sido marginadas, a pesar de su valor intrínseco y potencial como frutales (Mahden, 2001).

### 3.2.2. Origen

Las anonas son frutas tropicales y subtropicales nativas de Centro y Sur América. (Bridg, 2001).

### 3.2.3. Clasificación taxonómica (Según Cronquist, citado por Jones 1987)

**División:** Magnoliophyta

**Clase:** Magnoliopsida (dicotiledóneas)

**Subclase:** Magnollidae

**Orden:** Magnoliales

**Familia:** Annonaceae

**Género:** Annona

### 3.2.4. Valor alimenticio

Las anonas son frutas de buen sabor y altamente nutritivas. Su valor alimenticio varía considerablemente, pero la mayoría de ellos son ricos en carbohidratos, proteínas, calcio, fósforo, hierro, tiamina, niacina y riboflavina. Algunas especies en magnesio, ácido ascórbico y caroteno. (Hernández y León, 1992).

### 3.2.5. Distribución geográfica en Guatemala

Según la Flora de Guatemala, la distribución geográfica de las especies de *Annona* sp. en estudio son las siguientes:

Tabla No. 3

Distribución Geográfica de las dos especies de *Annona*

Especie	Departamento	Altura (m)
<i>Annona purpurea</i> (Chincuya)	Jutiapa, Santa Rosa (Oratorio y San Juan Tecuaco), Alta Verapaz, Izabal, Chiquimula, Retalhuleu, San Marcos	Elevaciones desde 91 hasta 1317, siendo más frecuente entre los 250 a 1000 msnm.
<i>Annona muricata</i> (Guanaba)	Santa Rosa (Cuilapa, Oratorio, Guazacapán y Taxisco); Jutiapa (Atescatempa y Yupiltepeque)	Elevaciones desde 38 hasta 1254, prefiriendo ambientes cálidos húmedos, en altitudes de 250 a 1000 msnm

Fuente: (Orellana & Martínez, 2001)

### 3.2.6. Ficha Técnica

Según las fichas técnicas para especies frutales elaboradas por la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO, por sus siglas en inglés) deben llevar la siguiente información:

- Características Generales
  - Botánica
  - Descripción
  - Origen y Localización
  - Composición nutricional
- Usos
  - Usos (fruto fresco, fruto procesado, medicinal, otros)
- Post-Cosecha
  - Operaciones generales de acondicionamiento
- Bibliografía. (FAO, 2006)

### 3.3. Estudios previos de aceites fijos

Entre los estudios más recientes sobre grasas y aceites vegetales se puede mencionar el de Montenegro, M. y Barrondo, A., (2012), en el que elaboraron su trabajo de graduación denominado “Evaluación y Caracterización Físicoquímica de Aceite fijo obtenido por Extrusión en Frío de cuatro especies nativas de Guatemala de la Familia Rosaceae: *Rubus tupy*, *Rubus kiowa*, *Rubus occidentalia* y *Rubus fruticosus*”, en el cual concluyeron el porcentaje de rendimiento de aceite fijo extraído por extrusión en frío de las diferentes especies de *Rubus*, fue menor al 10%, obteniéndose el mayor porcentaje de rendimiento de la especie *Rubus occidentalia* con 2.23%; así mismo, se logró evaluar y caracterizar los

aceites fijos de semillas de las cuatro especies en estudio por medio de pruebas fisicoquímicas y por cromatografía de gas.

Ramírez (2008), ejecutó su trabajo de graduación “Evaluación del rendimiento de extracción y caracterización del aceite fijo de café tostado tipo genuino Antigua obtenido por el proceso de prensado”, para ello realizó la extracción del aceite por prensado mediante un tratamiento térmico por extrusión, así también compara el rendimiento con la extracción de lixiviación en caliente Soxhlet. La caracterización del aceite de café la realizó a través de propiedades organolépticas como olor, color, aspecto y sabor; entre las propiedades físicas menciona el índice de refracción, densidad, pH, solubilidad, viscosidad y humedad.

Luna (2007), elaboró su trabajo de tesis denominado “Análisis fisicoquímico y evaluación de rendimiento de extracción del aceite de semilla de morro (*Crescentia alata HBK*), proveniente de las regiones de Estandzuela, Zacapa y San Agustín Acasaguastlán, El Progreso”, en el cual determinó constantes fisicoquímicas como densidad, viscosidad, punto de ebullición, índice de refracción y solubilidad en distintos solventes. Así mismo, determinó el perfil de ácidos grasos mediante la técnica de cromatografía de gases con espectrometría de masas.

García (2006), elaboró su trabajo de graduación denominado “Caracterización Agromorfológica de frutos de cuatro especies de *Annona* en los departamentos de Santa Rosa y Jutiapa”, el cual constituye una contribución al conocimiento del género *Annona*, generando de esta forma información básica a través de la caracterización, utilizando marcadores agromorfológicos de frutos de cuatro especies cultivados en los departamentos de Santa Rosa y Jutiapa. Así mismo, hace énfasis en el

conocimiento de la distribución geográfica de las cuatro especies y la variabilidad genética utilizando caracteres morfológicos así como la identificación de materiales promisorios.

Orellana & Martínez (2001), publicaron un artículo del proyecto regional realizado llamado “Distribución Geográfica de Anonáceas en Guatemala”, para el conocimiento de especies frutales nativos con potencial de uso, aprovechamiento y conservación. Con el objetivo de conocer la distribución y el estado actual de especies prioritarias de anonas en Guatemala en el cual la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala (FAUSAC) y el Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas (ICTA) realizaron un estudio etnobotánico y ecogeográfico de cinco especies en el período de junio de 2000 hasta mayo de 2001.

#### 4. JUSTIFICACIÓN

Guatemala es un país con amplia biodiversidad y con alto potencial agricultor, el cual basa parte de su economía en esta actividad; es por ello, que surge la necesidad de realizar estos estudios para poder determinar el uso y valor que se le puede dar a cada especie vegetal o producto natural que es cultivado en nuestro país.

Actualmente en Guatemala, se consumen productos que utilizan como materia prima el fruto de la anona, debido a que los frutos maduros son comestibles y se utilizan para la preparación de ciertos productos a nivel industrial y artesanal, como refrescos, jaleas y helados. La madera es utilizada en la industria de la construcción para partes de implementos agrícolas, cajas, postes de cercas y en la producción de pulpa para papel, y los extractos de semillas son utilizados como insecticidas para matar moscas (Pamplona, 2002). Así mismo, en la actualidad las semillas de éstas especies son productos de desecho por lo que sería de gran utilidad determinar la presencia de aceites fijos, y así establecer su rendimiento por expresión en frío y sugerir posibles aplicaciones industriales según su composición de ácidos grasos.

Con la elaboración del presente trabajo de investigación se espera beneficiar a las comunidades rurales, organizaciones gubernamentales y no gubernamentales y a las pequeñas empresas agroindustriales del país, brindándoles una alternativa para la industrialización de las especies de anonas cultivadas en Guatemala, aprovechando un material de desecho para la industria alimenticia. Al aprovechar los recursos que aporta esta especie vegetal, se podrían obtener nuevos productos para la economía del país.

## 5. OBJETIVOS

### 5.1. Objetivo General

- 5.1.1. Evaluar y caracterizar los aceites fijos de las semillas de dos especies de la familia Annonaceae: *Annona muricata* (Guanaba) y *Annona purpurea* (Chincuya) para su posible aplicación industrial.

### 5.2. Objetivos Específicos

- 5.2.1. Determinar porcentaje de rendimiento de extracción de aceite fijo de las semillas de las especies de *Annonaceae* por expresión en frío.
- 5.2.2. Describir las características organolépticas de los aceites fijos de las especies de *Annonaceae* en estudio.
- 5.2.3. Caracterizar los aceites fijos obtenidos de las semillas de las especies en estudio a través de índices fisicoquímicos.
- 5.2.4. Determinar el perfil de los ácidos grasos de los aceites fijos obtenidos de las semillas de las especies de *Annonaceae*.
- 5.2.5. Proponer una posible aplicación industrial en base a la composición química de cada uno de los aceites fijos obtenidos de las especies en estudio.
- 5.2.6. Elaborar la ficha técnica de las especies en estudio.

## 6. MATERIALES Y MÉTODOS

### 6.1. Universo

Semillas de especies vegetales nativas de la familia *Annonaceae*, que posean dentro de su composición aceites fijos.

### 6.2. Muestras a estudiar

Especies de *Annona muricata* L. (guanaba) y *Annona purpurea* Moç. & Sessé ex Dunal (chincuya)

### 6.3. Recursos Humanos

Investigador: Br. Andrea Alejandra Alvarado Álvarez

Asesora: Licda. Aylin Evelyn Santizo Juárez

Revisora: Sully Margot Cruz Velásquez Ph. D.

### 6.4. Metodología

#### 6.4.1. Colecta del material vegetal

Las dos especies de *Annona* se colectaron en plantaciones o poblaciones bajo manejo. La *Annona purpurea* se colectó en la Ecoparcela El Kakawatal Samayac, Suchitepéquez, y las semillas de la *Annona muricata* son semillas que eran material de desecho, recolectadas de una industria productora de helados que se encarga de coleccionar el fruto de los departamentos de Santa Rosa y Jutiapa, los cuales son los mayores productores de anonas del país. Se herborizó una muestra botánica de cada especie, la cual se depositó en el

Herbario BIGU de la Escuela de Biología para su identificación por un botánico y posterior referencia.

#### 6.4.2. Modelo de Muestreo

El modelo de muestreo que se planteó fue preferencial y por conveniencia. “El muestreo preferencial, es aquel en el que el investigador selecciona las unidades a muestrear de acuerdo a su propio criterio, considerando que ha logrado obtener una muestra “representativa” de la población.” (Mora, 1999)

#### 6.4.3. Composición de la Muestra

Se obtuvo una muestra representativa de los frutos y semillas de las dos especies de *Annona* (1-2 kg); 250 g de material vegetal fue identificado y guardado como muestra voucher de cada especie, y el material restante fue utilizado para la obtención de aceite fijo crudo, el cual se sometió a pruebas de laboratorio (Caracterización organoléptica y fisicoquímica).

#### 6.4.4. Procesamiento y embalaje de la droga vegetal

Las muestras fueron procesadas conforme a técnicas convencionales de secado y molienda. El almacenamiento, embalaje y transporte se realizó conforme a los principios aceptados.

##### 6.4.4.1. Preparación de las Semillas:

- Retirar la pulpa con colador.
- Realizar lavados sucesivos para separar las semillas.
- Realizar secado de semillas en secador solar a temperatura inferior a 30°C o bien, realizar secado en horno de

convección a temperatura menor a 30°C, hasta llegar a humedad menor a 10%.

6.4.4.2. Caracterización organoléptica de las semillas.

6.4.4.3. Retirar la testa con cascanueces a cada semilla.

6.4.4.4. Realizar extracción de los aceites

6.4.4.5. Realizar pruebas organolépticas

6.4.4.5.1. Descripción de la apariencia del aceite obtenido

6.4.4.5.2. Determinación del color del aceite fijo obtenido

6.4.4.6. Realizar pruebas fisicoquímicas

6.4.4.6.1. Densidad o gravedad específica

6.4.4.6.2. Índice de refracción

6.4.4.6.3. Viscosidad

6.4.4.6.4. Punto de fusión

6.4.4.6.5. Temperatura de formación de humos o punto de humeo

6.4.4.6.6. Prueba de frío

6.4.4.6.7. Índice de yodo

6.4.4.6.8. Índice de saponificación

6.4.4.6.9. Determinación de la rancidez

6.4.4.6.10. Determinación del perfil de ácidos grasos

6.4.4.6.11. Presencia y cuantificación de ácidos grasos poliinsaturados

6.4.4.7. Esterificación de muestras para inyección en Cromatógrafo de gases

6.4.4.7.1. Inyección de muestras en Cromatógrafo de gases

#### 6.4.5. Extracción de aceites fijos de cada especie

Se obtuvo aceite fijo bruto de cada especie a través de la técnica de expresión en frío; por medio de una prensa de tornillo a alta presión. Consistió en algunas o todas las etapas siguientes:

- 6.4.5.1. **Limpieza:** Eliminar las sustancias extrañas.
- 6.4.5.2. **Secado:** Puede ser necesario si el contenido de humedad es mayor que el deseable para el tratamiento posterior del aceite (superior al 10%) (Farmacopea Española, 2002).
- 6.4.5.3. **Descascarillado o descortezamiento y trituración:** Es útil para obtener una harina de alto contenido proteico por reducción de las fibras y para reducir las impurezas en el aceite.

Una vez realizado el proceso de descortezamiento o el de trituración, se debe procesar la muestra de inmediato porque se activan las enzimas lipasas, presentes en las semillas (Badui, S; 2006).

La eficacia del proceso de expresión es tal que sólo del 3 al 6 por ciento del aceite permanece en la torta (Farmacopea Española, 2002). En algunos casos la transformación en trozos, escamas o polvos gruesos, es conveniente para aumentar la superficie de contacto de la droga vegetal y facilitar la extracción de aceite.

Para la obtención del aceite se utilizó una Prensa de Aceite CARVER (Modelo C serie N 24000 536) la cual se distingue por ser un método de prensado en frío. El sistema utilizado es por tornillo de compresión. Mencionable es su adaptabilidad a todo tipo de semillas, bayas y nueces, sin tener que cambiar la dotación

estándar de la misma. Las Prensas CARVER son sencillas en cuanto a su mantenimiento, garantizando así la posibilidad de efectuar cambios rápidos de semillas en caso de necesidad. Interesante también es el residuo obtenido en forma de pelet (cake, meal) una vez extraído el aceite. Destaca por su fácil almacenamiento y transporte, y su aplicación en alimentación humana o para el ganado. Al utilizar esta tecnología de extracción a muy baja temperatura, se asegurarán las cualidades organolépticas de los aceites producidos que, dependiendo de la materia prima utilizada, pueden ser usadas directamente en procesos industriales.

#### 6.4.6. Preparación de la muestra de aceite

Se preparó según el método oficial 981.11 de la AOAC (Association of Official Analytical Chemistry). Se utilizó el líquido claro libre de sedimento. Para determinaciones en donde el resultado puede verse afectado por la presencia de agua (índice de yodo), secar la muestra como sigue: Agregar sulfato de sodio anhidro en proporción de 1-2 g por 10 g de aceite, y dejar en horno a 50°C. Agitar vigorosamente y filtrar hasta obtener un filtrado claro (Firestone & Yurawecz, 2005).

Según la norma COGUANOR NGO 34 073, las muestras deben guardarse en envases limpios y secos de vidrio ámbar. Cuando no se disponga de éstos, pueden emplearse frascos de vidrio envueltos en papel oscuro. La tapadera debe ser de vidrio esmerilado o con algún aislante adecuado.

#### 6.4.7. Caracterización organoléptica del aceite fijo obtenido de cada especie

6.4.7.1. **Materiales y Equipo:** Lámpara de luz difusa, espectrofotómetro UV-VIS y carta de color tipo Pantone.

6.4.7.2. **Reactivos:** Ciclohexano R.

6.4.7.3. **Cristalería:** Tubos de vidrio para ensayos comparativos de 16mm de diámetro interno y fondo plano y celdas de cuarzo para espectrofotómetro UV-VIS.

6.4.7.4. **Descripción de la apariencia del aceite obtenido:** Integrar un panel de tres personas para describir el aceite obtenido en cuanto a grado de limpidez, presencia de sedimentos o partículas en suspensión observables.

6.4.7.5. **Determinación del color del aceite fijo obtenido:** Integrar un panel de tres personas para observar el aceite obtenido en tubos de vidrio para ensayos comparativos, de diámetro interior uniforme de 16 mm (pueden utilizarse de otro diámetro) y fondo transparente y plano. La columna del líquido se examina según el eje vertical del tubo sobre fondo blanco, los matices deben apreciarse con luz difusa (Farmacopea Española, 2002). Se compararon contra una carta de color tipo Pantone o contra soluciones coloreadas preparadas según métodos farmacopéicos.

6.4.7.6. **Absorbancia:** Disolver 0.1000 g del aceite a examinar en ciclohexano R y diluir hasta 10.0 con el mismo disolvente. Se estableció la longitud de onda de máxima absorbancia y el valor de la misma (Farmacopea Española, 2002).

#### 6.4.8. Características Físicoquímicas del aceite fijo obtenido de cada especie

6.4.8.1. **Materiales y Equipo:** Balanza analítica, refractómetro de Abbé, viscosímetro digital brookfield, refrigerador 4 a 10°C, aparato para toma de puntos de fusión, estufas con agitador, horno, baño maría, bulbos para micropipeta, papel limpiantes, termómetros de mercurio, magnetos, mecheros, matraz de reacción, soportes de metal, pinzas para bureta y pinzas universales de metal.

6.4.8.2. **Reactivos:** Tolueno, éter de petróleo, sulfato de sodio anhidro, ácido acético glacial, yoduro de potasio, ácido clorhídrico concentrado, permanganato de potasio, dióxido de manganeso, dicromato de potasio, tetracloruro de carbono, almidón soluble, tiosulfato de sodio, yodo, ácido sulfúrico, yoduro de potasio, hidróxido de potasio, etanol al 95%, fenolftaleína, anaranjado de metilo, hidróxido de sodio, éter dietílico, fluoroglucinol y heptano.

6.4.8.3. **Cristalería:** Picnómetro de borosilicato, micropipetas de vidrio, beaker de 600 ml, capilares de vidrio, erlenmeyer de vidrio de 500 ml y 1L con tapones de vidrio esmerilado, balones aforados de vidrio de 1L, pipetas volumétricas de 20 y 25 ml, erlenmeyer de 250 ó 300 ml, condensadores para reflujo, ampollas de decantación, buretas de 25 y 5<sup>o</sup> ml y tubos de ensayo de 150 x 25 mm.

#### 6.4.8.4. **Densidad o Gravedad Específica:**

Según el método oficial AOAC 985.19 se determinó con picnómetro a 20°C, en un picnómetro previamente calibrado con agua recientemente hervida a 20°C. Para calcular el peso por unidad de volumen de la muestra se utilizó la fórmula:

$$D = W - W' / V$$

$W - W'$  = Diferencia entre el peso del picnómetro vacío y el picnómetro con muestra

$V$  = Volumen del picnómetro en ml a 20°C.

Para calcular la gravedad específica se aplicó la siguiente fórmula:

**Gravedad específica =  $D$  / densidad del agua a 20°C.**

$D$  = peso por unidad de volumen de la muestra a 20°C.

Densidad del agua a 20°C = 0.99823 g/ml a 20°C. (Fuente AOAC)

#### 6.4.8.5. Índice de Refracción

Determinar utilizando un refractómetro de Abbe a 20°C, aplicando el método oficial AOAC 921.08. Para cargar el instrumento, abrir el doble prisma y colocar unas cuantas gotas del aceite sobre el prisma. Cerrar y asegurar firmemente el doble prisma para obtener una delgada capa continua de aceite. Dejar reposar la muestra en el aparato unos pocos minutos hasta que la temperatura de la muestra iguale la temperatura del doble prisma y realizar la lectura. Limpiar el doble prisma después de cada medición utilizando un paño suave humedecido con disolventes como (tricloroetileno, tolueno o éter de petróleo) (Firestone, 2005).

#### 6.4.8.6. Viscosidad

Determinar siguiendo las recomendaciones farmacopéicas, según las cuales, se debe determinar a  $20^{\circ}\text{C} \pm 0.1^{\circ}\text{C}$  a fin de evitar sesgos en los resultados. En general este parámetro es el que deberá controlarse con sumo cuidado, ya que al aumentar la temperatura disminuye la viscosidad (USP XXIV, 1995).

Emplear un viscosímetro de Brookfield digital, por lo que se deben aplicar las instrucciones del fabricante para determinar la viscosidad dinámica en centipois.

#### 6.4.8.7. Punto de Fusión

Aplicar el método oficial 920.157 de la AOAC, introducir 10 mm de aceite en un tubo capilar de paredes delgadas. Sellar uno de los extremos del capilar en una llama pequeña, cuidando de no quemar el aceite. Dejar los tubos capilares por lo menos una noche (16 horas aproximadamente), en un refrigerador a temperaturas entre  $4\text{-}10^{\circ}\text{C}$ . Fijar el capilar a un termómetro graduado a  $0.2^{\circ}\text{C}$ , dejando la parte sellada a la altura del bulbo de mercurio. Introducir el termómetro aproximadamente 30 mm, en un beaker de 600 ml que se ha llenado hasta la mitad con agua. Agitar el agua con un magneto a baja velocidad e iniciar el calentamiento del beaker a una velocidad de  $0.5^{\circ}\text{C}/\text{min}$ . Tomar como punto de fusión la temperatura a la cual la sustancia se vuelve transparente, puede utilizarse una lupa para detectar el derretimiento completo. Reportar el promedio de tres determinaciones. No debe variar más de  $0.5^{\circ}\text{C}$  (Firestone, 2005). También se puede utilizar un aparato específico para toma de punto de fusión.

#### 6.4.8.8. Temperatura de formación de humos o punto de humeo

Es la temperatura en la que se producen compuestos de descomposición, visibles y depende de los ácidos grasos libres y monoacilglicéridos de la grasa. Colocar la muestra a estudiar en un beaker de 25 ml, introducir el bulbo de mercurio de un termómetro graduado a 0.2°C hasta 350°C, sin tocar las paredes del beaker. Calentar a una velocidad aproximada a 0.5°C/min. Establecer la temperatura a la cual se observa la formación de humos blancos.

#### 6.4.8.9. Prueba de frío

Sirve para determinar la eficiencia de la hibernación. Se mantiene el aceite a 0°C y se mide el tiempo que permanece transparente; los triacilglicéridos de alto punto de fusión (estearinas) lo enturbian a bajas temperaturas. Si el aceite se mantiene transparente durante cinco horas y media, se considera de buena calidad. (Badui, 2006).

##### *Procedimiento Operatorio:*

Utilizar el procedimiento sugerido por la norma COGUANOR 34 072 h13.

- 6.4.8.9.1. Filtrar 20-30 ml de muestra, calentar la porción filtrada, agitando durante el calentamiento, hasta alcanzar 130°C. Retirar inmediatamente de la fuente de calentamiento
- 6.4.8.9.2. Llenar completamente un frasco de vidrio con la muestra, tapar herméticamente, ajustar la temperatura de la muestra en baño de hielo a 25°C.
- 6.4.8.9.3. Sellar el frasco con parafina o algún otro medio que asegure la hermeticidad.

6.4.8.9.4. Sumergir el frasco completamente en baño de hielo, que debe permanecer a 0°C durante 5 horas y media. Hacer los recambios de hielo que sean necesarios.

6.4.8.9.5. Retirar el frasco del baño y observar contra la luz para determinar si existen cristales o enturbiamiento. No confundir las pequeñas burbujas de aire con cristales.

6.4.8.9.6. La muestra debe ser clara, límpida y brillante.

#### 6.4.8.10. Índice de yodo

Utilizar el método sugerido por la norma COGUANOR NGO 34 072 h2, que coincide con el método oficial de la AOAC 920.159

#### **Preparación de reactivos.**

6.4.8.10.1. Ácido acético glacial: Debe ensayarse de la siguiente manera: diluir 2 ml del ácido con 10 ml de agua destilada y agregar 0.1 ml de solución de permanganato de potasio 0.1 N. La coloración rosada no debe desaparecer por completo durante dos horas (NGO 34 072 h2, 1982)

6.4.8.10.2. Cloro, de 99,8% de pureza: Puede emplearse el producto comercial que se expende en cilindros, pero debe secarse haciéndolo pasar a través de ácido sulfúrico concentrado ( $d=1.84$ ) antes de añadirlo a la solución de yodo. El cloro puede prepararse a partir de ácido clorhídrico concentrado ( $d=1.19$ ) haciendo gotear el ácido sobre permanganato de potasio, sobre una mezcla de permanganato de potasio y dióxido de manganeso o sobre dicromato de potasio y luego calentando. El gas generado se conduce por medio de un tubo de vidrio al ácido sulfúrico concentrado ( $d=1.84$ ) y luego a la solución de yodo (NGO 34 072 h2, 1982).

- 6.4.8.10.3. Almidón soluble: la sensibilidad se comprueba como sigue: hacer una pasta con 1 g de almidón y una pequeña cantidad de agua destilada fría. Agitar y mientras tanto agregar 200 ml de agua hirviendo; vertir 5 ml de esta solución en 100 ml de agua y agregar 0.05 ml de solución de yodo 0.1N. El color intenso producido debe desaparecer al agregar 0.05 ml de solución de tiosulfato de sodio (NGO 34 072 h2, 1982)
- 6.4.8.10.4. Dicromato de potasio: pulverizar y secar a 110°C hasta peso constante antes de usar.
- 6.4.8.10.5. Solución de yoduro de potasio: En un balón aforado de 1L se disuelven 150 g de yoduro de potasio en agua destilada y se completa el volumen (NGO 34 072 h2, 1982)
- 6.4.8.10.6. Solución indicadora de almidón: Se hace una pasta homogénea con 10 g de almidón soluble y agua destilada fría; se agregan 1L de agua destilada hirviendo, se agita rápidamente y se enfría. Puede agregarse ácido salicílico en proporción de 1.25g/L, para preservar la solución. Si ésta va a almacenarse durante largo tiempo, debe guardarse en el refrigerador de 4-10°C. Cuando el punto final de la titulación (azul a incoloro) no sea distintivo, debe prepararse una nueva solución (NGO 34 072 h2, 1982)
- 6.4.8.10.7. Solución 0.1N de dicromato de potasio: Pesar exactamente 4.9035 g de dicromato de potasio. Disolver y aforar con agua destilada en balón aforado de 1L a 25°C (NGO 34 072 h2, 1982)
- 6.4.8.10.8. Solución 0.1N de tiosulfato de sodio: Pesar 24.8 g de tiosulfato de sodio. Disolver y aforar con agua destilada en un balón aforado de 1L.
- Valoración:* Medir 25.0 ml de solución de dicromato de potasio con pipeta volumétrica y verter en un erlenmeyer. Adicionar

5.0 ml de ácido clorhídrico concentrado y 10.0 ml de la solución de yoduro de potasio, agitar con movimiento rotatorio para que se mezclen bien todas las soluciones. Dejar en reposo durante 5 minutos. Agregar 100 ml de agua destilada. Titular con la solución de tiosulfato de sodio, agitando continuamente, hasta que el color amarillo casi haya desaparecido. Agregar 1-2 ml de solución indicadora de almidón y continuar la titulación agregando lentamente la solución de tiosulfato, hasta la desaparición del color azul. La normalidad de la solución se calcula de la siguiente manera:

$$N_2 = (V_1 \times N_1) / V_2$$

$N_2$  = Normalidad de la solución de tiosulfato de sodio.

$N_1$  = Normalidad de la solución de dicromato de potasio.

$V_1$  = Volumen de la solución de dicromato de potasio, en ml

$V_2$  = Volumen de la solución de tiosulfato empleada, en ml.

- 6.4.8.10.9. Reactivo de Wijs: Pesar 13.0 g de yodo y disolver calentando suavemente en 1,000 ml de ácido acético glacial. Dejar enfriar la solución. En un erlenmeyer, colocar 14.0 ml de solución de yoduro de potasio y 150.0 ml de agua destilada; agregar 10.0 ml de la solución de yodo y titular con solución de tiosulfato de sodio, usando solución de almidón como indicador. Separar 100-200 ml de la solución de yodo y almacenar en lugar fresco.

Burbujear cloro gaseoso seco por el resto de la solución hasta que se necesite un volumen de tiosulfato de sodio aproximadamente igual al doble del empleado en la titulación original, pero no mayor. Cuando se ha agregado la cantidad de cloro requerida se produce un cambio de color característico

del reactivo de Wijs, lo cual puede ayudar a la determinación del punto final.

Titular de nuevo una porción de esta solución y si el contenido de halógenos es más del doble del original, se reduce agregando la cantidad necesaria de la solución de yodo separada al principio.

El reactivo de Wijs es sensible a la temperatura, humedad y luz, por lo que debe guardarse en un lugar fresco y oscuro y nunca permitir que permanezca a temperaturas mayores a 30°C (NGO 34 072 h2, 1982).

También puede prepararse disolviendo 16.5 g ICl en 1 L de ácido acético. Almacenar en frasco de vidrio ámbar sellado con parafina hasta el momento de su uso. Establecer la relación I/Cl de la siguiente manera:

***Contenido de yodo:*** Pipetear 5 ml de la solución de Wijs en un erlenmeyer de 500 ml que contiene 150 ml de solución de agua saturada con cloro y algunos núcleos de vidrio. Agitar, calentar hasta hervir, y hervir durante 10 minutos. Enfriar, agregar 30 ml de ácido sulfúrico (1+49) y 15 ml de solución de yoduro de potasio al 15% y titular inmediatamente con tiosulfato de sodio 0.1M

***Contenido de halógenos totales:*** Pipetear 20.0 ml del reactivo de Wijs en un erlenmeyer de 500 ml que contiene 150 ml de agua recientemente hervida y enfriada y 15.0 ml de solución de

yoduro de potasio al 15%. Titular inmediatamente con tiosulfato de sodio 0.1M.

$$I/Cl = 2X / (3B-2X)$$

X = ml de tiosulfato requeridos para el contenido de yodo.

B= ml requeridos para el contenido total de halógenos.

El radio entre I/Cl debe ser de  $1.10 \pm 0.1$  (Firestone, 2005).

### **Preparación de la muestra**

**Aceites:** Preparar la muestra según el método oficial 981.11 de la AOAC. Utilizar el líquido claro libre de sedimento. Para determinaciones en donde el resultado puede verse afectado por la presencia de agua (índice de yodo), se debe secar la muestra de la siguiente manera: agregar sulfato de sodio anhidro en proporción 1-2 g por 10 g de aceite y dejar en horno a 50°C. Agitar vigorosamente y filtrar hasta obtener un filtrado claro (Firestone, 2005).

Según la norma COGUANOR NGO 34 073, las muestras deben guardarse en envases limpios y secos de vidrio ámbar. Cuando no se dispongan de éstos, pueden emplearse frascos de vidrio envueltos en papel oscuro. La tapadera de vidrio debe ser de vidrio esmerilado o con algún aislante adecuado.

### **Procedimiento**

En un recipiente de vidrio, pesar una cantidad de muestra tal que permita la existencia, después de la absorción, de un exceso de 50-60% el reactivo de Wijs agregado, es decir 100-150% de la cantidad absorbida. El siguiente cuadro puede servir de guía para determinar la cantidad de muestra que debe pesarse:

Índice de Yodo	100% de exceso g	150% de exceso g	Exactitud de la pesada.
3	10	10	±0.001
3	10.576	8.4613	±0.005
5	6.346	5.0770	±0.0005
10	3.1730	2.5384	±0.0002
20	1.5865	0.8461	±0.0002
40	0.7935	0.6346	±0.0002
60	0.5288	0.4231	±0.0002
80	0.3966	0.3173	±0.0001
100	0.3173	0.2538	±0.0001
120	0.2644	0.2115	±0.0001
140	0.2266	0.1813	±0.0001
160	0.1983	0.1587	±0.0001
180	0.1762	0.1410	±0.0001
200	0.1586	0.1269	±0.0001

Fuente: Norma COGUANOR NGO 34 072 h2, 1982

Colocar cuidadosamente el recipiente con la muestra de aceite en un erlenmeyer de 500 ml y adicionar 20.0 ml de tetracloruro de carbono.

Medir con pipeta volumétrica 25.0 ml de reactivo de Wijs, agregar al matraz que contiene la muestra, agitar con movimiento rotatorio, tapar.

Preparar dos pruebas blanco y hacer la determinación simultánea con la muestra.

Guardar los matraces en la oscuridad durante 30 minutos a una temperatura de  $25 \pm 5^\circ\text{C}$ . Si el índice de yodo de la muestra es mayor de 150, guardar la muestra a esta temperatura durante una hora.

Agregar 20 ml de solución de yoduro de potasio y 100 ml de agua destilada.

Titular con solución de tiosulfato de sodio 0.1N, agregando gradualmente y con agitación vigorosa, hasta que el color amarillo casi haya desaparecido.

Adicionar 1-2 ml de solución de almidón y continuar la titulación hasta desaparición del color azul.

Efectuar las determinaciones por duplicado.

#### **Obtención de los resultados**

Calcular aplicando la siguiente ecuación y promediando los resultados obtenidos en las determinaciones en duplicado:

$$\text{Índice de yodo} = 12.69 (V_1 - V_2) N / m$$

$V_1$  = Volumen de la solución de tiosulfato de sodio empleado en la titulación de la prueba en blanco, en ml.

$V_2$  = Volumen de la solución de tiosulfato de sodio empleado en la titulación con la muestra, en ml.

$N$  = Normalidad de la solución de tiosulfato de sodio.

$m$  = Masa de la muestra, en gramos.

#### 6.4.9. Índice de Saponificación

Utilizar el método oficial AOAC 920.160 o bien la norma COGUANOR NGO 34 072 h1.

##### 6.4.9.1. Preparación de reactivos

**Hidróxido de potasio, solución alcohólica:** disolver 40 g de hidróxido de potasio, de grado reactivo para análisis, en 1.0 L de alcohol al 95%, manteniendo la temperatura debajo de 15.5°C mientras se disuelve todo el álcali, y luego se filtra. La solución debe permanecer límpida (COGUANOR NGO 34 072 h1, 1982).

**Ácido clorhídrico 0.5N:** tomar 51.5 g de ácido clorhídrico concentrado y completar a 1.0 L con agua destilada.

*Normalizar como sigue:* disolver 0.5000 g de carbonato de sodio previamente triturado y seco a 110°C durante dos horas, en 50 ml de agua. Agregar 0.1 ml de disolución de anaranjado de metilo R y valorar con el ácido preparado hasta que la solución vire de amarillo a rojizo. Calentar a ebullición durante dos minutos. La disolución se vuelve amarilla. Enfriar y valorar hasta coloración amarilla rojiza. Repetir el procedimiento hasta que el color rojizo no desaparezca con el calentamiento (Farmacopea Española, 2002). También puede prepararse como se indica en la USP.

*Anaranjado de Metilo:* disolver 0.1 g de anaranjado de metilo en 80 ml de agua destilada y completar a 100 ml con alcohol absoluto (Farmacopea Española, 2002).

**Fenolftaleína:** Pesar 1.0 g de fenolftaleína y disolver con alcohol etílico al 95% en un balón aforado de 100 ml (COGUANOR NGO 34 072 h1, 1982).

#### 6.4.9.2. Preparación de la muestra

**Aceites:** Preparar la muestra según el método oficial 981.11 de la AOAC. Utilizar el líquido claro libre de sedimento. Para determinaciones en donde el resultado puede verse afectado por la presencia de agua (índice de yodo), se debe secar la muestra de la siguiente manera: agregar sulfato de sodio anhidro en proporción 1-2 g por 10 g de aceite y dejar en horno a 50°C. Agitar vigorosamente y filtrar hasta obtener un filtrado claro (Firestone, 2005).

Según la norma COGUANOR NGO 34 073, las muestras deben guardarse en envases limpios y secos de vidrio ámbar. Cuando no se dispongan de éstos, pueden emplearse frascos de vidrio envueltos en papel oscuro. La tapadera de vidrio debe ser de vidrio esmerilado o con algún aislante adecuado.

#### 6.4.9.3. Procedimiento Operatorio

6.4.9.3.1. Pesar 4 a 5 g de la muestra y adicionar 50.0 ml de la solución alcohólica de hidróxido de potasio, medido con pipeta y dejando que escurra el contenido unos 30 segundos.

- 6.4.9.3.2. Conectar el condensador de aire y se hierve suavemente hasta saponificación completa, lo cual, generalmente requiere 1h. Para evitar pérdidas, vigilar que el anillo de vapor que se forma en el condensador no llegue hasta la parte superior del mismo.
- 6.4.9.3.3. Enfriar, sin dejar que la muestra se gelatinice, y se lava el interior del condensador con una pequeña cantidad de agua destilada.
- 6.4.9.3.4. Retirar el condensador, adicionar 1 ml de fenolftaleína y titular con ácido clorhídrico, hasta desaparición del color rosado.
- 6.4.9.3.5. Preparar una determinación en blanco, de la misma forma que la muestra.
- 6.4.9.3.6. Las determinaciones se hacen por duplicado.
- 6.4.9.4. Obtención de los Resultados.

El índice de saponificación se expresa en mg de hidróxido de potasio por gramo de muestra y se obtiene aplicando la siguiente ecuación y promediando los resultados obtenidos en las determinaciones en duplicado:

$$\text{Índice de saponificación, mg KOH/g} = 56.1 (V_1 - V_2) N/m$$

**V1** = Volumen de la solución de ácido clorhídrico empleado en la prueba en blanco, en centímetros cúbicos.

**V2** = Volumen de la solución de ácido clorhídrico empleado en la determinación con la muestra en centímetros cúbicos.

**N** = Normalidad de la solución de ácido clorhídrico.

$m$  = Masa de la muestra, en gramos. (COGUANOR NGO 34 072 h1, 1982)(Firestone, 2005).

#### 6.4.10. Determinación de la rancidez

6.4.10.1. **Índice de ácidos grasos libres:** Se incluye el método oficial AOAC 940.28 aunque existen otras variaciones del mismo que pueden aplicarse.

- Pesar 7.05 de aceite bien mezclado en un beaker de 250 mL.
- Adicionar 50 ml de etanol caliente neutro (2.0 ml de fenolftaleína y NaOH 0.1M hasta débil coloración rosada permanente).
- Titular con NaOH 0.1M con agitación vigorosa hasta el primer cambio rosa suave que permanece más de un minuto.
- Calcular la cifra de ácidos grasos libres, como ácido oleico (1 ml de hidróxido de sodio 0.1M equivale a 0.0282 g de ácido oléico. (Firestone, 2005) (Kirk, 2008)

6.4.10.2. **Índice de rancidez (Prueba de Kreis):** Se incluye el método sugerido por la norma COGUANOR NGO 34 072 h12.

- Lavar los tubos de ensayo de vidrio de 150 x 25 mm con detergente, enjuagar con agua caliente y dejar en mezcla crómica durante algunas horas. Enjuagar varias veces con agua corriente, finalmente con agua destilada y se secan en el horno.
- El reactivo a utilizar es fluoroglucinol al 0.1% en éter dietílico.

- Agitar vigorosamente, durante 20 segundos, 10 ml de aceite con 10 ml de la solución de fluoroglucinol y 10 ml de ácido clorhídrico concentrado. La aparición de un color rosado es indicación de la rancidez incipiente. (COGUANOR 34 072 H12; 1982).
- Si el aceite se diluye en proporción 1:20 con heptano y la prueba sigue siendo positiva, es probable que la rancidez de la muestra sea evidente al gusto y al olfato. (Kirk, 2008)

También puede utilizarse la prueba de índice de peróxidos para establecer el grado de oxidación de la muestra, aplicando la metodología sugerida por la norma COGUANOR NGO 34 072 h21 o su variante moderna utilizando un kit comercial y fotometría para establecer los meq de oxígeno activo por Kg de muestra.

#### 6.4.11. Determinación del perfil de ácidos grasos del aceite fijo obtenido de las especies en estudio

- 6.4.11.1. Materiales y equipo: Cromatógrafo de gases con detector FID marca Agilent, columna capilar de 15m x 0.10 mm de diámetro interno y 0.10  $\mu\text{m}$  con recubrimiento polar (detilenglicol polisuccinato, butadienol polisuccinato, etilenglicol poliadipato, etc); columna capilar de 15m x 0.10 mm de diámetro interno y 0.10  $\mu\text{m}$ , con recubrimiento especial que permita la separación de ácidos grasos poliinsaturados; estufa con agitador; pipetas automáticas de 1-100  $\mu\text{l}$  y de 100-1000  $\mu\text{l}$ ; puntas descartables para pipetas automáticas.
- 6.4.11.2. Reactivos: Trifloruro de boro al 14% en metanol, hexano, heptano, tolueno,  $\text{bcl}_3$ .metanol 12% p/p, 2,2-

dimethoxypropano, sulfato de sodio anhidro, nitrógeno o helio, estándar de ésteres de ácidos grasos al 2-4% en peso, estándar de ésteres metílicos de ácidos grasos poliinsaturados, cloruro de metileno.

6.4.11.3. Cristalería: Balón de destilación de 50 ml, columna de reflujo, núcleos de ebullición, viales de microreacción 5 ml con tapa sólida, viales de microreacción 5 ml con tapa perforada, jeringa para inyección en cg 10  $\mu$ l graduada a 0.1  $\mu$ l .

6.4.11.4. Perfil de ácidos grasos, GLC de los ésteres de ácidos grasos.

**Derivatización:** Se preparan ésteres metílicos de ácidos grasos (FAME, por sus siglas en inglés). Los ésteres metílicos de los ácidos grasos de cadena intermedia y larga de los aceites de la dieta (más de seis átomos de carbono) se preparan por el método del trifloruro de boro ( $\text{BF}_3$ ). Este método es confiable para fines generales, pero es preciso llevarlo a cabo con sumo cuidado porque el reactivo es venenoso (Kirk, 2008).

6.4.11.4.1. Disolver la muestra en un solvente no polar como hexano, heptano o tolueno.

6.4.11.4.2. Cuando la muestra se encuentra en medio acuoso, evaporar primero el agua a sequedad y entonces disolver el residuo con un solvente no polar.

6.4.11.4.3. Pesar 1-25 mg de la muestra en un micro recipiente de reacción.

6.4.11.4.4. Agregar 2 ml de  $\text{BCl}_3$ .metanol 12% p/p. Un secuestrante de agua como el 2,2-dimethoxypropano puede adicionarse en este punto.

6.4.11.4.5. Calentar a 60°C de 5-10 minutos. El tiempo de derivatización puede variar dependiendo de los componentes específicos.

6.4.11.4.6. Enfriar y entonces agregar 1 ml de agua y 1 ml de hexano.

6.4.11.4.7. Agitar el microrecipiente de reacción (esto es crítico para que los ésteres migren a la capa no polar).

6.4.11.4.8. Dejar reposar las capas para que se separen, transferir cuidadosamente la capa orgánica superior hacia un vial limpio y secar la capa orgánica aplicando alguno de los procedimientos siguientes:

- Pasar la capa orgánica a través de una cama de sulfato de sodio anhidro durante el trasvasado al vial limpio. Mezclar.
- Agregar sulfato de sodio anhidro al vial limpio y mezclar.
- Para determinar el tiempo específico de la derivatización, analizar alícuotas de muestra representativa usando diferentes tiempos de derivatización. Graficar el área del pico (eje y) versus tiempo de derivatización (eje x). El tiempo mínimo a usar es aquel en el que no se observa ningún aumento al incrementar el tiempo. (cuando la curva se torna plana).
- Si se sospecha que la derivatización completa nunca se ha alcanzado, utilizar reactivo adicional o re-evaluar la temperatura.
- Es importante preparar un blanco, con el mismo tratamiento de las muestras, para identificar

cualquier problema que pueda presentarse (Sigma-Aldrich, 2009).

**Procedimiento Operacional:** Aplicar el sugerido por el método oficial AOAC 963.22. Este procedimiento se llevó a cabo en el Laboratorio Nacional de Salud.

- El graficador o detector de 2.5-5.0mV de rango y menos del 1.5s de rango de respuesta.
- **Fase móvil:** Hidrógeno, 50cm/sec constante.
- **Temperatura del Horno:** 100°C, con incrementos graduales de 4-8°C/min hasta 195°C durante 1 min. Si el aparato no se puede programar de esta manera. Inyectar la muestra a 100°C y luego de un tiempo aumentar la temperatura a un valor intermedio entre 100°C y 195°C hasta que todos los componentes hallan eluido.
- **Temperatura del puerto de inyección:** 250°C.
- **Temperatura del detector FID:** 300°C.
- Volumen de inyección 0.2 µL, loop 200:1.
- Preparar estándar (mezcla conocida de metil ésteres de ácidos grasos) en heptano al 5-10%.
- Inyectar primero de 0.2-0.5 µL del estándar (mezcla conocida de metil ésteres de ácidos grasos, similares a los que se espera encontrar en la muestra) (Firestone y Horwitz, 2005). y ajustar las condiciones de operación según sea necesario.
- Analizar las muestras en las mismas condiciones del estándar.
- Medir tiempos de retención en distancia (s) para los ésteres conocidos.

- Identificar los picos de la muestra utilizando el gráfico del estándar como referencia, interpolar si es necesario.
- Los ésteres deben eluir en orden creciente de número de carbonos y de mayor grado de insaturación para el mismo número de carbonos. Es decir C16 estará antes que C18, y los metilésteres de C18 aparecerán en orden: estearato (C18:0), oleato (18:1), linoleato (18:2) y linolenato (18:3). Algunos pueden cambiar de orden con el uso de la columna (Firestone & Horwitz, 2005).

### Cálculos

- Utilizar el método de normalización, asumir que todos los componentes de la muestra están presentes en el cromatograma, por lo que la sumatoria de las áreas debajo de los picos representa el 100% de constituyentes.
- El instrumento cuenta con integrador, y proporciona las áreas de cada ácido graso.
- El porcentaje de ácidos grasos se calculó aplicando la siguiente fórmula:

$$C_i = G_i \times 100 / \sum G_i$$

**G<sub>i</sub>**= área de pico correspondiente al componente i

**∑G<sub>i</sub>**= suma de las áreas debajo de todos los picos.

- En ciertos casos, como por ejemplo, en presencia de componentes con menos de 12 átomos de carbono, existen grandes diferencias en pesos moleculares y presencia de grupos secundarios, por lo que deberá usarse un factor de corrección para convertir áreas de picos en porcentajes de peso. Determinar factores de

corrección, analizando estándares de referencia con metil ésteres de composición similar a la muestra bajo las mismas condiciones de operación. Para estándares de referencia:

$$\text{Porcentaje de peso de componente } i = B_i \times 100 / \Sigma B_i$$

$B_i$  = peso del componente  $i$  en el estándar de referencia

$\Sigma B_i$  = peso total de todos los componentes en el estándar de referencia. Calcular desde el cromatograma:

$$\text{Porcentaje (área/área) del componente } i = G_i \times 100 / \Sigma G_i$$

Donde se calcula el factor de corrección para cada componente

$$K_i = (B_i / \Sigma B_i) \times (\Sigma C_i / C_i)$$

Determinar el factor de corrección relativo de ácido palmítico,  $K_{16} = 1$ , entonces:

$$K' = K_i / K_{16}$$

Entonces para calcular el porcentaje de cada componente (como metil éster), multiplicar el área por el factor de corrección apropiado, y utilizar las áreas corregidas:

$$\text{Porcentaje en peso de cada componente } i = (K'_i \times G_i) \times 100 / \Sigma (K'_i \times G_i).$$

En ciertos casos, por ejemplo, cuando todos los componentes no han eluido, usar el estándar interno,  $S$  como  $C_{15}$  o  $C_{17}$  metil éster y determinar el factor de corrección. Entonces

$$\text{Porcentaje por peso de componente } i \text{ como metil éster} \\ = (W_s / W) \times (K'_i / K'_s) \times (G_i / G_s) \times 100$$

$W_s$  = mg de estándar interno

$W$  = mg totales de la porción de muestra, y suscrito  $S$  referente al componente de estándar interno.

- Reportar resultados con las siguientes cifras significativas, con una cifra después del punto decimal en todos los casos: 3 para  $> 10\%$ , 2 para  $1-10\%$ , y una para  $< 1\%$  (Firestone & Horwitz, 2005).

### Precisión

- **Repetibilidad:** dos determinaciones individuales desarrolladas el mismo día por el mismo operador con el mismo aparato sobre la misma muestra para componentes mayoritarios ( $>5\%$ ) no deben diferir  $>$  del  $3\%$  del valor relativo con un valor absoluto de  $1\%$  (Firestone & Horwitz, 2005)

#### 6.4.11.5. Presencia y cuantificación de ácidos grasos poliinsaturados.

Los ácidos grasos poliinsaturados, denominados PUFAs por sus siglas en inglés, abarcan cadenas de 18, 20 y 22 carbonos que tienen dobles enlaces 2-6 con configuración *cis*, separados por un grupo metileno. El ácido linoleico (C18:2,  $\omega_6$ ) y el ácido  $\alpha$ -linoleico (C18:3,  $\omega_3$ ) son necesarios para el desarrollo normal y el funcionamiento de los tejidos, por lo que se conocen como esenciales. Entre los cuales también se encuentran el ácido araquidónico y docosahexanoico (Kirk, 2008).

Los ácidos grasos poliinsaturados se identifican y determinan mediante cromatografía de gases de sus ésteres metílicos. Las condiciones operacionales a utilizar son las siguientes:

- Columna polar de 15m x 0.10mm de diámetro interno y 0.10  $\mu\text{m}$ .
- Temperatura del horno del cromatógrafo 140°C, con aumentos de 40°C/minuto hasta llegar a 280°C donde se mantiene durante dos minutos o hasta que eluyan todos los componentes del estándar externo.
- Temperatura de puerto de inyección: 250°C.
- Temperatura del detector FID: 280°C.
- Fase móvil: hidrógeno 50 cm/sec constante.
- Volumen de inyección del estándar externo y de las muestras previamente preparadas: 0.2  $\mu\text{L}$

#### **6.5. Análisis y evaluación de los resultados obtenidos**

Por conveniencia todos los ensayos y mediciones se realizaron por duplicado para cada aceite (por limitaciones analíticas y económicas). Los resultados obtenidos de las variables cualitativas (organolépticas: apariencia y color del aceite obtenido) y las variables cuantitativas (físicoquímicas: densidad, índice de refracción, viscosidad, punto de fusión, temperatura de formación de humos, prueba de frío, índice de yodo, índice de saponificación, determinación de rancidez y determinación del perfil de ácidos grasos del aceite fijo obtenido), son resumidos en tablas y gráficas.

## 7. RESULTADOS

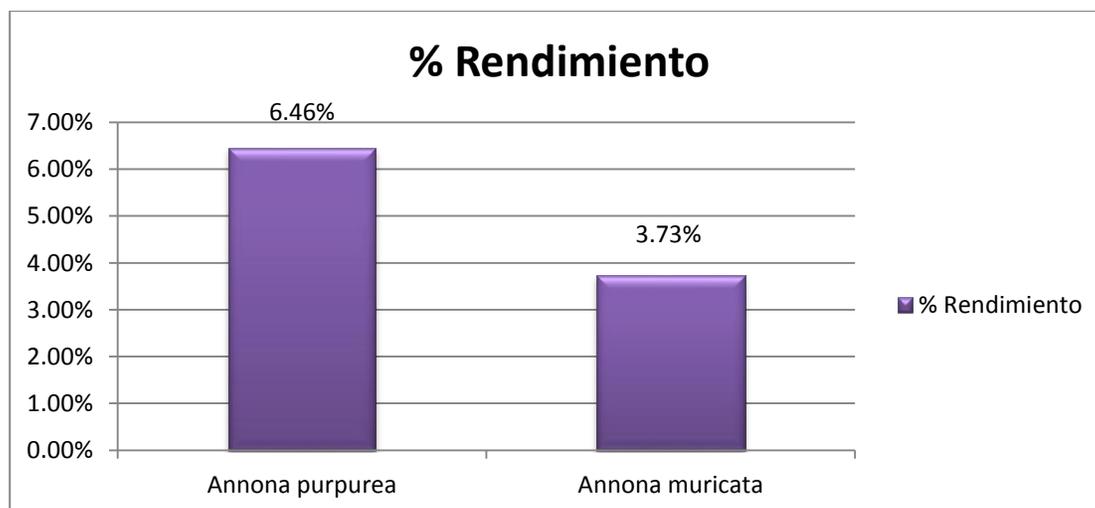
CUADRO No. 1. Porcentaje de rendimiento de los aceites fijos de las especies en estudio.

En el siguiente cuadro se presentan los resultados de porcentaje de rendimiento, color, y aspecto físico de los aceites fijos obtenidos de las especies en estudio mediante la técnica de expresión en frío.

Nombre común	Especie	Cantidad (gramos)	% Rendimiento	Aspecto físico	Observaciones
Chincuya	<i>Annona purpurea</i>	De 2352.1 g de semillas, se obtuvo <b>152.0533 g de aceite</b>	6.46 %	T° ambiente: Líquido viscoso	Expresión por medio de prensa CARVER, se obtuvo un líquido denso abundante.
Guanaba	<i>Annona muricata</i>	De 2936.87 g de semillas, se obtuvo <b>109.678 g de aceite</b>	3.73 %	Viscoso	La expresión se realizó sin testa para optimizar el proceso de extracción.

Fuente: Datos experimentales obtenidos en el Laboratorio de Investigación de Productos Naturales LIPRONAT

GRÁFICA No. 1. Porcentaje de Rendimiento obtenido por expresión en frío.



CUADRO No. 2. Control de calidad organoléptico de las semillas en estudio

A continuación se presenta la caracterización organoléptica como color, porcentaje de humedad y presencia o ausencia de materia extraña presente en las semillas de las especies en estudio

Nombre común	Especie	Cantidad en gramos	Color	% de humedad	Materia extraña
<b>Chincuya</b>	<i>Annona purpurea</i>	2352.1 g	Según el taco de color No. 2 PANTONE es África G3-12	4.12%	Negativo
<b>Guanaba</b>	<i>Annona muricata</i>	2937.5 g	Según el taco de color No.1 PANTONE es Jabalí 14-09	2.41%	Positivo: Algunas semillas fueron extraídas del estudio por encontrarse picadas o en estado de descomposición

Fuente: Datos experimentales obtenidos en el Laboratorio de Investigación de Productos Naturales LIPRONAT

CUADRO No. 3. Resultados de las pruebas colorimétricas y organolépticas de los aceites fijos en estudio

Los resultados de las pruebas colorimétricas obtenidos según la absorbancia máxima por medio de Espectrofotómetro UV, así como las pruebas organolépticas realizadas a los aceites fijos obtenidos de las especies en estudio, se resumen en el siguiente cuadro.

Nombre común	Especie	Color	Color (Absorbancia máxima)	Olor	Aspecto
Chincuya	<i>Annona purpurea</i>	Amarillento	0.38746	Característico a ácido caproico	Líquido denso
Guanaba	<i>Annona muricata</i>	Blanco-amarillento	0.5711	Característico a ácido caproico	Líquido denso

Fuente: Datos experimentales obtenidos en el Laboratorio de Investigación de Productos Naturales LIPRONAT

CUADRO No. 4. Resultados de las pruebas fisicoquímicas de los aceites fijos

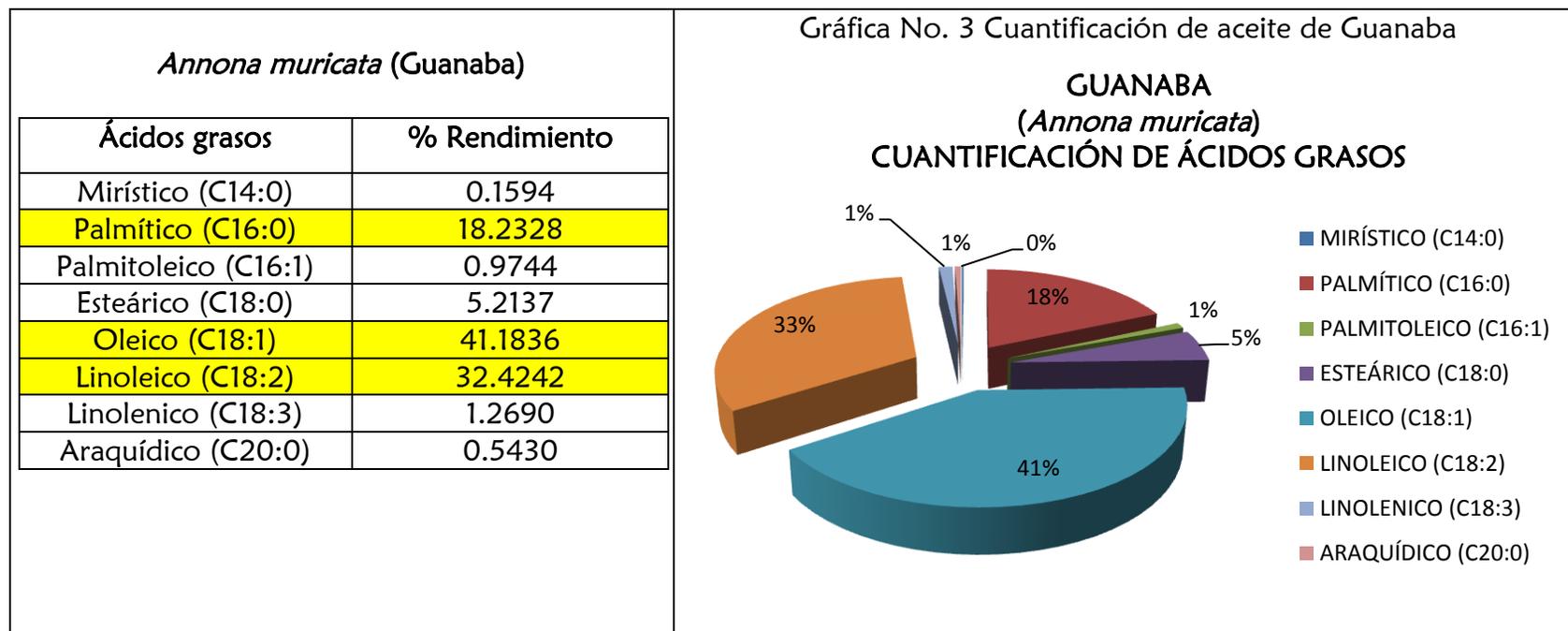
A continuación se presentan los resultados de densidad, punto de fusión, pH, índice de refracción, índice de yodo, índice de peróxidos, prueba de acidez, índice de saponificación, ácidos grasos libres, índice de rancidez y prueba de frío de los aceites fijos para las especies en estudio.

Pruebas fisicoquímicas	Especie	
	<i>Annona purpurea</i> (Chincuya)	<i>Annona muricata</i> (Guanaba)
Densidad (g/mL)	0.9351	0.9237
Punto de fusión (°C)	25.0	25.0
pH (20°C)	6.0	6.0
Índice de Refracción (25°C)	1.4772	1.479
Índice de Yodo (g yodo/100g muestra)	94.434 ± 0.36	106.913
Índice de peróxidos (meq/kg muestra)	45.74 ± 1.43	3.07
Prueba de acidez (% ácidos grasos libres como ácido oleico x 1.99)	82.98 ± 2.54	19.18 ± 0.005
Ácidos grasos libres (g de ácido oleico)	0.01225	0.00846
Índice de saponificación	183.26 ± 0.80	178.12
Prueba de frío (Ausencia de cristales/turbidez a 0°C)	No cumple	Si cumple
Índice de rancidez (Ausencia de color rosado)	Si cumple (-)	Si cumple (-)

Fuente: Datos experimentales obtenidos en el Laboratorio de Investigación de Productos Naturales LIPRONAT

CUADRO No.5. Cuantificación de ácidos grasos saturados y poliinsaturados presentes en los aceites fijos en estudio  
A continuación se presenta la Cuantificación de los ácidos grasos en la Unidad de Físicoquímico de Alimentos del Laboratorio Nacional de Salud por Cromatografía de Gases con detector FID, tomando como cien por ciento los ácidos grasos presentes en el aceite en estudio.

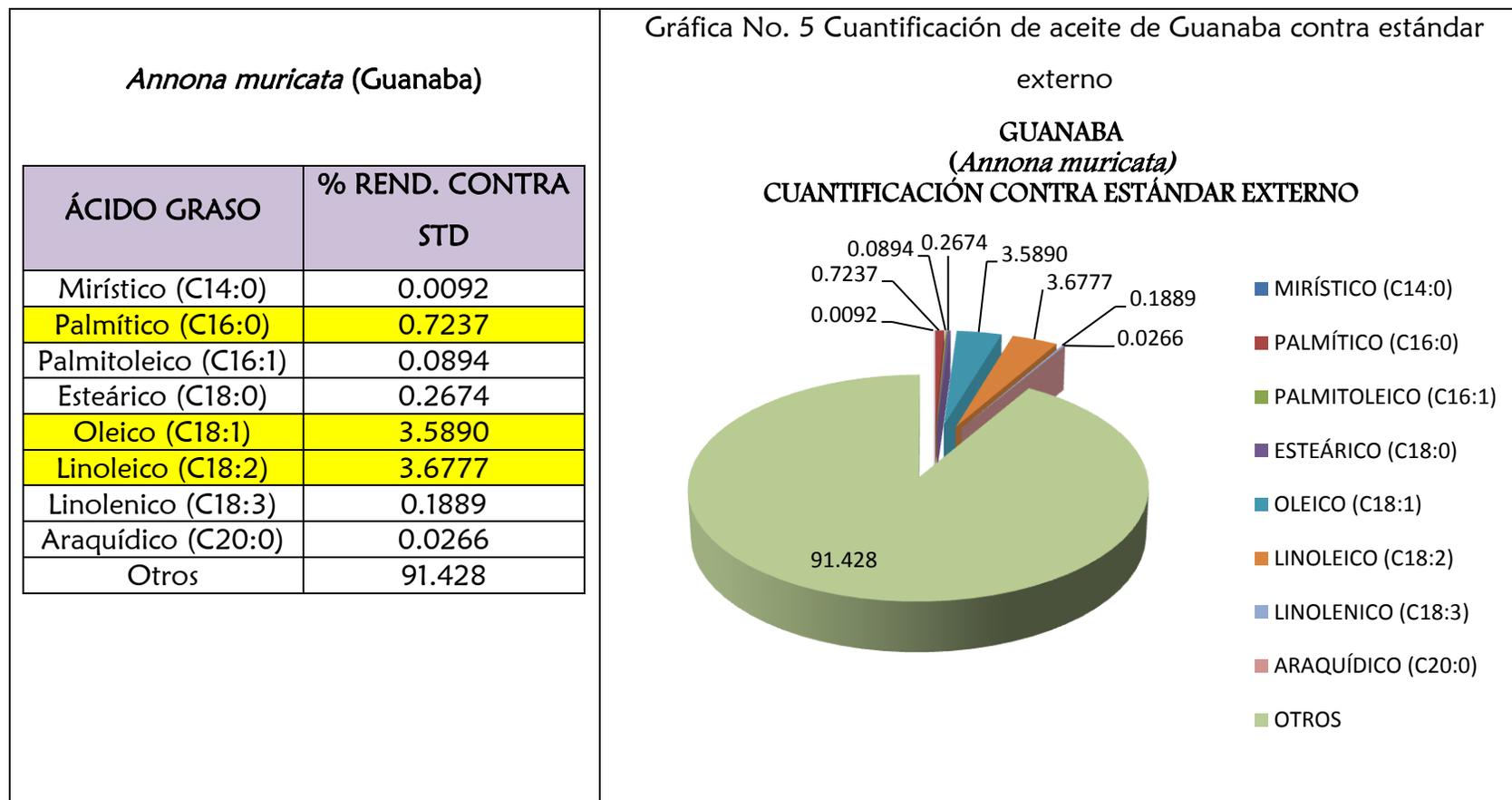
ÁCIDOS GRASOS		GRÁFICAS
<i>Annona purpurea</i> (Chincuya)		Gráfica No. 2. Cuantificación de aceite de Chincuya  <b>CHINCUYA</b> <i>(Annona purpurea)</i> <b>CUANTIFICACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS</b>
<b>Ácidos grasos</b>	<b>% Rendimiento</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ MIRÍSTICO (C14:0)</li> <li>■ PALMÍTICO (C16:0)</li> <li>■ PALMITOLEICO (C16:1)</li> <li>■ ESTEÁRICO (C18:0)</li> <li>■ OLEICO (C18:1)</li> <li>■ LINOLEICO (C18:2)</li> <li>■ LINOLENICO (C18:3)</li> <li>■ ARAQUÍDICO (C20:0)</li> <li>■ BEHÉNICO (C22:0)</li> <li>■ LIGNOCÉRICO (C24:0)</li> </ul>
Mirístico (C14:0)	0.1554	
Palmítico (C16:0)	23.7074	
Palmitoleico (C16:1)	1.4410	
Esteárico (C18:0)	4.6901	
Oleico (C18:1)	42.6090	
Linoleico (C18:2)	25.0581	
Linolenico (C18:3)	0.8340	
Araquídico (C20:0)	0.9686	
Behénico (C22:0)	0.3024	
Lignocérico (C24:0)	0.2339	



Fuente: Datos experimentales obtenidos en Laboratorio Nacional de Salud por medio de Detector de Llama (FID)

CUADRO No. 6. Cuantificación de ácidos grasos saturados y poliinsaturados presentes en los aceites fijos en estudio contra estándar externo

ÁCIDOS GRASOS		GRÁFICAS	
<i>Annona purpurea</i> (Chincuya)		Gráfica No. 4 Cuantificación de aceite de Chincuya contra estándar externo	
		CHINCUYA ( <i>Annona purpurea</i> ) CUANTIFICACIÓN CONTRA ESTANDAR EXTERNO	
<b>ÁCIDO GRASO</b>	<b>% REND. CONTRA STD</b>	<p>92%</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>■ MIRÍSTICO (C14:0)</li> <li>■ PALMÍTICO (C16:0)</li> <li>■ PALMITOLEICO (C16:1)</li> <li>■ ESTEÁRICO (C18:0)</li> <li>■ OLEICO (C18:1)</li> <li>■ LINOLEICO (C18:2)</li> <li>■ LINOLENICO (C18:3)</li> <li>■ ARAQUÍDICO (C20:0)</li> <li>■ BEHÉNICO (C22:0)</li> <li>■ LIGNOCÉRICO (C24:0)</li> <li>■ OTROS</li> </ul>	
Mirístico (C14:0)	0.0088		
Palmítico (C16:0)	0.9295		
Palmitoleico (C16:1)	0.1306		
Esteárico (C18:0)	0.2376		
Oleico (C18:1)	3.6679		
Linoleico (C18:2)	2.8075		
Linolenico (C18:3)	0.1226		
Araquídico (C20:0)	0.0469		
Behénico (C22:0)	0.0128		
Lignocérico (C24:0)	0.0078		
Otros	92.028		



Fuente: Datos experimentales obtenidos en Laboratorio Nacional de Salud Detector de llama o FID

## 8. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En la presente investigación, se estableció el porcentaje de rendimiento del aceite fijo en semillas plenamente identificadas y trazables de las dos especies de anonas en estudio, obteniendo el aceite fijo de ambas especies por extrusión en frío, como puede observarse en el cuadro No. 1. Se utilizó este método debido a que la literatura indica que es el ideal para la caracterización de los aceites ya que conservan su identidad.

Bountin & Badens (2009), indican que cuando se desea conservar la composición química de los aceites, se debe utilizar el proceso de expresión en frío; mientras que en la Farmacopea Española (2002), establece que éste procedimiento es útil para extraer aceite fijo cuando es abundante e indica que cuando posee un bajo contenido pueden utilizarse otros métodos. Gunstone (2006), también hace mención que para establecer la calidad de los aceites es necesario realizar los análisis en aceites crudos, sin tratamientos posteriores ya sea extraído por expresión en frío o con solventes, siempre y cuando estos aceites provengan de semillas plenamente identificadas y trazables.

El muestreo realizado en la presente investigación fue preferencial y por conveniencia, para así evaluar y caracterizar los aceites fijos de las dos especies de anonas: *Annona purpurea* y *Annona muricata* para su aplicación industrial.

Luna (2007), indica que debe considerarse que existen varios factores que pueden influenciar en el porcentaje de rendimiento del aceite fijo, entre los que se encuentran: Tipo de suelo, edad de la planta, época de cultivo, condiciones climáticas, riqueza del suelo, entre otras.

La extracción del aceite fijo del material vegetal de las dos especies de anonas se llevó a cabo por extrusión en frío, utilizando para ello una prensa hidráulica marca CARVER, modelo C serie N 24000 536. Obteniendo un porcentaje de rendimiento para cada especie de: 6.46% de la *Annona purpurea* y de 3.73% de la *Annona muricata* (Ver cuadro y gráfica No.1). Siendo la especie con mayor porcentaje de rendimiento la *Annona purpurea*.

Muchos de los aceites comerciales son sometidos primero a expresión en frío para obtener aceites vírgenes y la torta remanente es sometida al proceso de extracción con solventes, considerados de menor calidad. Los métodos de extracción con solventes, siempre reportan porcentajes de rendimiento elevados en comparación con la expresión en frío, en donde gran cantidad del aceite permanece en la torta de semillas (Gunstone, 2006).

En la presente investigación se ha comprobado que el aceite o grasa puede obtenerse por expresión en frío, lo cual disminuye costos de producción y la contaminación ambiental. En ambas especies se obtuvo un porcentaje de rendimiento bastante bajo por este método, sería necesario utilizar otros métodos de extracción para establecer cuál es el método más adecuado para su obtención, tomando en cuenta que no debe modificarse su composición y características de calidad.

Para llevar a cabo el análisis fisicoquímico de los aceites fijos de las dos especies a estudiar, se inició con el control de calidad de la materia vegetal de las semillas de las especies de anona, tomando en cuenta parámetros como color, porcentaje de humedad, presencia de microorganismos patógenos y gramos totales de semilla pura.

La caracterización organoléptica realizada a las semillas en estudio permite establecer la calidad de las semillas y pueden ser valiosas para diferenciarlas de otras en el futuro. Servirá de antecedente para futuras investigaciones de las especies estudiadas, debido a que se generó nueva información con respecto al color, porcentaje de humedad y presencia de materia extraña.

El color se determinó utilizando como patrón un taco de color tipo PANTONE, asignando para cada especie un código que lo identifica (Cuadro No. 2). La mayor cantidad de gramos de semilla se obtuvo de la especie *Annona muricata* con 2937.5 gramos. El porcentaje de humedad se mantuvo por debajo del 10%, debido a que de esta manera se conserva el material vegetal en óptimas condiciones; así mismo, se puede observar en el cuadro No. 2, que el porcentaje de humedad se mantuvo en un rango de 2 y 4% ( $\pm 0.41$ ). En este parámetro de calidad, se sometió al material vegetal a un proceso de secado, ya que en un principio poseía un porcentaje de humedad superior al 10%; utilizando para ello un horno de convección a una temperatura de 40°C, durante períodos cortos de tiempo. La medición del porcentaje de humedad se llevó a cabo en una balanza de humedad. Rojas (2010), expresa que el porcentaje de humedad influye en el tamaño de las semillas y por lo tanto en la densidad aparente de las mismas. Así mismo, influye en la integridad de las mimas, ya que el aumentar la humedad se activan las enzimas hidrolíticas propias de las especies vegetales (Farmacopea Española, 2002). Es por ello que la información generada de ambas especies en estudio será de utilidad para investigaciones futuras.

Como se puede observar en el cuadro No. 3, se determinaron las características organolépticas, incluyendo parámetros como: color, olor, aspecto físico y absorbancia máxima. El aceite fijo obtenido de la *Annona purpurea* presenta un color amarillento y un aspecto líquido viscoso a temperatura ambiente, el aceite fijo obtenido de las semillas de la *Annona muricata* presenta un aspecto viscoso a

temperatura ambiente y una tonalidad blanco-amarillento; se determinó la longitud de onda a la cual la muestra de aceite fijo de las dos especies de anona absorbe la mayor cantidad de luz, para la especie de *Annona purpurea* la máxima absorbancia se encontró a 0.38746nm y para la *Annona muricata* fue de 0.5711nm, este parámetro se puede utilizar como referencia para futuros estudios, para así poder determinar la pureza e identidad de un aceite fijo específico. Kirk (2008), explica que tradicionalmente, se definen como aceites aquellos que son líquidos a temperatura ambiente; mientras que los que son sólidos se denominan grasas. Esperando que los aceites posean mayor cantidad de ácidos grasos insaturados; mientras que las grasas presentan mayor proporción de ácidos grasos saturados. Este fue el comportamiento que presentaron ambos aceites fijos en estudio, debido a que los dos fueron líquidos a temperatura ambiente. El color obtenido en los dos aceites fijos, coinciden con lo reportado en la literatura para grasas o aceites de origen vegetal, debido a que se encuentran dentro de la gama del amarillo a amarillo verdoso (Kirk, Sawyer & Egan, 2008).

Las pruebas fisicoquímicas aportan mayor información sobre los ácidos grasos presentes en los aceites, ya que estos determinan el comportamiento y los usos que pueden tener a nivel industrial. Como se mencionó anteriormente, la edad de la planta, tipo de suelo, época de colecta, factores genéticos y todos aquellos que afecten el porcentaje de rendimiento, pueden afectar a los parámetros fisicoquímicos. De acuerdo a las propiedades fisicoquímicas de los aceites fijos se determinó que ambos aceites presentan un pH ácido (pH = 6.0). Badui (2006) y otros autores, explican que los aceites se encuentran constituidos principalmente por triacilglicéridos (ésteres de ácidos grasos con glicerol), por lo que los ácidos grasos representan un gran porcentaje de la composición de las grasas y los aceites, lo cual explicaría el pH ligeramente ácido observado en los aceites de las especies en estudio.

Venturella (2003), Kirk (2008) y Nielsen (2003), indican que los índices fisicoquímicos más importantes para establecer la calidad y pureza de una grasa o aceite son: *índice de yodo, índice de saponificación y el índice de acidez*, los cuales se discutirán a continuación. Así mismo, se debe tomar en cuenta que el grado de insaturación de los aceites en estudio se relaciona con el punto de fusión y por consiguiente con el índice de yodo. Nielsen (2003), afirma que cuanto mayor es el número de insaturaciones presentes en el aceite o grasa, más yodo es absorbido por el mismo. Por consiguiente, entre más elevado es el índice de yodo, más insaturado es el aceite en estudio. Por lo que el aceite obtenido de la guanaba (106.913) presenta más insaturaciones que el aceite obtenido de la chincuya ( $94.434 \pm 0.36$ ). Kirk (2008), clasifica a los aceites como no secantes (80-110), semisecantes (80-140) y secantes (125-200), según el valor de yodo que reporten. Rodríguez (1998), considera que un índice de yodo inferior a 100 es propio de grasas no secantes, superior a 170 de aceites secantes, y entre éstos se encuentran los aceites semisecantes.

Los aceites que poseen mayor cantidad de dobles enlaces al ser expuestos al aire se oxidan (absorben  $O_2$ ) espesándose y endureciéndose rápidamente, denominándose aceites secantes, los cuales generalmente son de uso industrial. El más representativo entre ellos es el aceite de lino y el de tung; los cuales son utilizados en la industria de las pinturas. Los aceites que bajo la acción del oxígeno del aire se oxidan, es decir, que se espesan y endurecen lentamente y no por completo, se llaman semisecantes. Entre estos se encuentran la mayoría de los aceites comestibles, por ejemplo: soya, girasol, algodón, etc. Los aceites no secantes no se solidifican en absoluto, ni siquiera después de largo tiempo; entre ellos: el aceite de oliva y el de maní (Luna, 2008). Por lo que podemos determinar que los aceites fijos obtenidos son aceites no secantes, ya que permanecieron líquidos a lo largo del tiempo.

Nielsen (2003), afirma que el índice de saponificación, es el indicador del peso molecular medio de los triglicéridos presentes en la muestra. Cuando menor sea el índice de saponificación, tanto más larga será la longitud de la cadena del ácido graso promedio y por ende el peso molecular promedio. En el caso de los aceites fijos obtenidos de las especies en estudio, éstos poseen valores que indican la presencia de ácidos grasos de cadena larga y alto peso molecular, lo cual se puede comprobar al establecer el perfil de ácido grasos (ver cuadro No.5 y 6).

Nielsen (2003), define el índice de acidez, como los miligramos de KOH necesarios para neutralizar los ácidos grasos libres en un gramo de grasa o de aceite. Estos ácidos grasos libres proceden de la hidrólisis de los triglicéridos. Así mismo, los hidrogenofosfatos y los aminoácidos pueden contribuir a la acidez de un aceite. Este parámetro fisicoquímico es útil para predecir la cantidad de aceite que se perdería durante el proceso de refinado, diseñado para eliminar los ácidos grasos libres. Con lo cual se puede predecir que ambos aceites presentarían mayores pérdidas, sobre todo el aceite obtenido de la Chincuya.

El índice de acidez, también indica la resistencia de la grasa o aceite ante la hidrólisis de los triglicéridos en glicerol y ácidos grasos libres. Ninguno de los dos aceites de las dos especies en estudio superó el índice de ácidos grasos libres establecido para el aceite de oliva, incluso mostraron valores muy reducidos por lo que se esperaría que sean más resistentes.

Kirk (2008) y Nielsen (2003), indican que los parámetros fisicoquímicos más importantes para predecir la estabilidad de un aceite o grasa frente a la oxidación, son: el índice de ácidos grasos libres, índice de peróxidos y el índice de rancidez. Así mismo, las normas COGUANOR y Firestone (2005), también consideran que éstos índices fisicoquímicos indican el grado de degradación de la grasa o aceite.

Kirk, Sawyer & Egan (2008), explican que la acidez comienza a hacerse notable cuando los ácidos grasos libres se encuentran entre 0.5 y 1.5%. Los porcentajes de ácidos grasos libres elevados como el caso de la Chincuya, indica la rancidez hidrolítica (Nielsen, 2003).

El índice de peróxidos, se define como la cantidad de peróxidos presentes en el aceite. Se forman lentamente en el período de inducción que puede durar de unas semanas a varios meses por lo que se espera que los valores cuantitativos sean bajos en aceites frescos. Este método posee la desventaja de que requiere una gran cantidad de muestra para su determinación (Kirk, Sawyer & Egan, 2008). Se llevó a cabo la determinación de este parámetro, debido a que es uno de los ensayos más comunes para establecer la oxidación de los lípidos y por ende predecir su estabilidad.

Nielsen (2003), indica que los aceites de buena calidad por lo general poseen índices de peróxidos menores a 20. Al observar los resultados del cuadro No. 4, el aceite de Guanaba (3.07) cumple con este criterio de calidad. Por lo que el aceite de Guanaba presenta excelentes características, debido a que no ha sido sometido a ningún proceso de refinamiento, ya que los aceites comerciales de origen vegetal presentan valores por debajo de 10 cuando han sido sometidos a algún proceso de refinamiento como la desodorización.

El aceite de Chincuya presentó un valor muy elevado, lo cual indica que es más susceptible a la oxidación, debido a que su valor (45.74) se encuentra por encima de 20, la norma CODEX para aceites comestibles 210-1999, establece que para los aceites vírgenes obtenidos por expresión en frío es aceptable un valor por encima de 15, siempre y cuando los aceites se encuentren libres de sabor y olor a rancio, por lo que este valor podría ser característico para este aceite sin ser indicador de oxidación.

El índice de rancidez, indica la presencia de ácidos grasos libres, resultantes de la lipólisis o también denominada auto oxidación (rancidez hidrolítica) o por la oxidación de los lípidos (rancidez oxidativa). La lipólisis es la hidrólisis de los ácidos grasos procedentes de la molécula de glicérido, ya que tiene lugar por medio de un mecanismo de radicales libres automantenibles, lo cual da lugar a diversos productos como aldehídos, cetonas, ácidos orgánicos e hidrocarburos (Nielsen, 2003). La reacción de Kreis, se basa en la producción de coloración rojo cuando el fluoroglucinol reacciona con la grasa oxidada en solución ácida. Al observar el cuadro No. 4, se puede observar que ambos aceites presentan cierta resistencia ante la lipólisis, ya que el resultado fue negativo.

La determinación de la densidad relativa a 20°C, es útil para realizar cálculos y conversiones necesarias durante el análisis fisicoquímico. Según la literatura los valores reportados para varios aceites fijos de origen vegetal a temperatura ambiente, reportan valores entre 0.9 y 1.0 (Kirk, Sawyer & Egan, 2008); por lo que se puede observar que los aceites fijos obtenidos de las semillas en estudio presentan esta tendencia, debido a que ambos aceites reportaron valores menores a 1.0; obteniendo como resultado 0.9351 g/mL para la chincuya y 0.9237 g/mL para la guanaba. Así mismo cabe mencionar, que los aceites que son líquidos a temperatura ambiente, presentan una mayor proporción de ácidos grasos insaturados. Por lo que la densidad y el estado físico pueden ser útiles para predecir la proporción de los ácidos grasos saturados e insaturados presentes en un aceite o grasa, siempre y cuando se haya determinado en la grasa cruda.

Charley (2006), menciona que el punto de fusión es una medida de la fuerza de los enlaces entre los radicales de los ácidos grasos dentro de los cristales de la grasa. Al aumentar la atracción entre las moléculas, menos necesario se hace enfriarlas (al retirar el calor) para que se cristalicen. Es importante mencionar la relación entre el índice de yodo y el punto de fusión, debido a que las grasas más saturadas con

valores de yodo bajos son sólidos a temperatura ambiente y los aceites que están más insaturados son líquidos, lo cual indica una relación inversa entre el punto de fusión y el valor de yodo (Kirk, 2008).

Los resultados obtenidos, se pueden observar en el cuadro No. 4, tanto el aceite de Chincuya como el de Guanaba presentaron un punto de fusión a 25.0°C, presentaron un comportamiento como lo describe la literatura. Los aceites ricos en ácidos grasos insaturados, presentan un alto valor de índice de yodo y bajo punto de fusión.

Nielsen (2003), menciona que el índice de refracción se encuentra relacionado con el grado de insaturación de los aceites, por lo tanto, también se encuentra relacionado con el índice de yodo. Al comparar estos valores para aceites comerciales con la composición de ácidos grasos de las mismas, se puede observar que el índice de refracción aumenta al aumentar el número de insaturaciones de los ácidos grasos presentes, por lo que también aumenta el índice de yodo. Se puede observar en el cuadro No. 4, los índices de refracción para las especies en estudio son similares, ya que la Chincuya presentó un índice de refracción de 1.477 y la Guanaba 1.479, por lo que afirma que poseen mayor proporción de ácidos grasos insaturados.

Jurado (2009), relaciona el índice de refracción de forma directa con la densidad, debido que al aumentar la densidad (medida de los sólidos disueltos en un líquido), es más difícil para la luz atravesar la muestra, por lo que aumenta el valor del índice de refracción.

Nielsen (2003), afirma que la prueba de frío garantiza que el aceite se mantiene líquido incluso cuando se almacena a temperaturas de refrigeración. El aceite de Guanaba fue el único que cumple con este parámetro, por lo que podría utilizarse

en la formulación de aderezos para ensaladas, productos lácteos y otros derivados que requieran refrigeración.

No fue posible determinar la viscosidad de los aceites en estudio, debido a que esta prueba requiere un volumen de aceite considerable (20 mL), aún con el adaptador para muestras pequeñas. Este parámetro es útil para determinar las propiedades reológicas de la grasa o aceite que también pueden ser determinadas por la composición de ácidos grasos. Autores como Kirk (2008) y Nielsen (2003), no la consideran de importancia para establecer la calidad de los aceites.

Debido a que se obtuvo poca cantidad de muestra de los aceites en estudio, se decidió darle prioridad a la realización del perfil de ácidos grasos de los aceites de las especies en estudio.

Gunstone (2006), menciona que el Codex Alimentarius requiere que los análisis sobre la composición de los aceites vegetales se realicen en aceites crudos, sin procesar, a partir de semillas o nueces autenticadas. Así mismo indica que el aceite no debe someterse a ningún proceso posterior, como desodorización, lavado o filtrado, ya que se puede alterar la composición del mismo. Así mismo se menciona que pueden caracterizarse no sólo los aceites obtenidos por expresión en frío, sino también aquellos obtenidos por extracción con solventes.

Martines, Mattea y Maestri (2008), afirman que el perfil de ácidos grasos es el porcentaje de ácido graso presente en la totalidad de ácidos grasos identificados. En el cuadro No. 5, se presenta la cuantificación de ácidos grasos, tomando como cien por ciento los ácidos grasos presentes en el aceite en estudio; es decir, del total de ácidos grasos identificados en los diferentes aceites, en qué porcentaje se encuentra cada uno. Esta información se denomina perfil de ácidos grasos. Se incluye el promedio entre las diversas inyecciones de los aceites.

En el cuadro No. 6, se presenta la cuantificación de los ácidos grasos presentes contra estándar externo con detector de gases FID para comparar áreas bajo la curva. Se debe tomar en cuenta que *otros* corresponden al vehículo y otros componentes afines a los lípidos, los cuales no son parte de este estudio. La disponibilidad de estándares externos trazables y el análisis de los aceites en estudio con detector de gases, le brindan a los resultados un alto grado de confiabilidad. El análisis contra estándar externo trazable, permite identificar inequívocamente los ácidos grasos presentes y realizar la cuantificación por comparación de áreas bajo la curva en el cromatograma, tomando en cuenta el factor de dilución.

Los aceites obtenidos de las especies en estudio se sometieron a análisis por cromatografía de gases con detector FID o de llama, como se puede observar en la tabla No.5 y gráficas 2 y 3. Se reportó la presencia de ocho ácidos grasos presentes en el aceite de Chincuya, de los cuales cuatro son insaturados y representan el 75.84%, entre ellos, linoleico (32.42%, de la serie de omega seis), oleico (41.18%), linolénico (1.27%, de la serie de omega tres) y palmitoléico (0.97%). Así mismo se reportaron la presencia de ácidos grasos saturados entre ellos el mirístico (0.16%), palmítico (18.23%), esteárico (5.21%) y araquídico (0.54%).

Se identificaron y cuantificaron diez ácidos grasos en el aceite obtenido de la Guanaba, de los cuales cuatro son ácidos grasos insaturados, palmitoleico (1.44%), oleico (42.61%), linoleico (25.06%, de la serie omega seis) y linolénico (1.68%, de la serie omega tres); además entre los saturados más prominentes se encuentra el mirístico (0.16%), palmítico (23.71%), esteárico (4.69%), araquídico (0.97%), behénico (0.30%) y el lignocérico (0.23%).

En los aceites fijos obtenidos de las especies en estudio se identificó la presencia de los ácidos linoléico y linolénico, los cuales son clasificados como ácidos grasos

esenciales para el buen funcionamiento del organismo humano y se requiere de la ingesta continua porque el cuerpo humano no los puede sintetizar.

Dentro de los ácidos grasos mayoritarios cuantificados en los aceites fijos obtenidos en ambas especies, se encuentra el ácido oleico insaturado (Chincuya 41.18% y Guanaba 42.61%), el cual en la proporción correcta puede proveer al aceite de mayor estabilidad frente a la oxidación, especialmente cuando se encuentran presentes los ácidos grasos de la serie omega tres y seis (Gunstone, 2006).

La presencia de los ácidos grasos mayoritarios en los dos aceites fijos obtenidos de las especies en estudio son el oleico, linoleico, palmítico y esteárico, son los que definirán sus usos y aplicaciones.

Para asegurar la veracidad de los resultados de la Guanaba, se logró identificar y cuantificar por medio de Cromatografía de gases con detector de masas, el contenido de ácidos grasos promisorios para la Guanaba y sus tiempos de retención (Ver Tabla y Cromatograma, en anexo No. 6). Como se puede observar en la gráfica en mayor proporción el aceite fijo de esta especie es el ácido Linoléico con un 41%, dicho ácido es necesario en la dieta debido a que es precursor de las prostaglandinas y otros componentes de tipo hormonal (Benyon, O'Neal 2003, p. 63); seguido por el Ácido Oleico con un 32%, el ácido oleico es famoso por sus efectos beneficiosos sobre la salud cardiovascular y hepática, aumenta el llamado colesterol bueno (HDL) y reduce el colesterol malo (LDL) en sangre (Gil 2010, p. 273). Logrando confirmar que los ácidos grasos mayoritarios en esta especie son el linoleico y oleico.

El análisis por cromatografía de gases con detector FID con estándar externo de las especies en estudio, permitió calcular el porcentaje (g/100g de aceite) de cada ácido graso en el aceite en estudio. Los resultados obtenidos se presentan en el cuadro No.

6 y gráficas No. 4 y 5. Debido a que los aceites obtenidos en estudio no han sido sometidos a ningún proceso de refinamiento, existe una gran cantidad de compuestos liposolubles que no se identificaron ni cuantificaron en la presente investigación, por lo que se presentan en este cuadro como OTROS. Peiretti & Gai (2009), reportan el porcentaje de ácidos grasos de esta manera, por el costo que implica la disponibilidad de estándares trazables de calidad conocida.

Los resultados obtenidos al comparar las áreas bajo la curva de los diversos cromatogramas, contra el respectivo estándar de ésteres metílicos de ácidos grasos, puede observarse que en las especies en estudio los ácidos grasos mayoritarios son el ácido oleico, linoléico y palmítico. En menor proporción se encuentran el mirístico y el araquídico para la Chincuya y el mirístico, lignocérico y behénico para la Guanaba. Estos resultados coinciden con lo que indica (Alais, 1990) sobre los ácidos grasos de origen natural más comunes, pues también cita al palmítico, esteárico, oleico y linoléico.

Kirk (1998), afirma que uno de los principales usos industriales de los aceites y grasas es el aislamiento y purificación de ácidos grasos de diferentes calidades, según el uso previsto. El cuadro No. 6 de la sección de resultados, permite identificar los aceites y grasas en estudio más promisorios como fuentes de los ácidos grasos antes mencionados.

A continuación se incluyen los usos industriales reportados en la literatura para cada ácido graso, lo cual permitirá inferir las probables aplicaciones de los aceites y grasas en estudio. Se sugieren los posibles usos y aplicaciones de los aceites en estudio en base a los ácidos grasos más abundantes en los aceites fijos obtenidos de las dos especies de anonas en estudio.

El ácido oleico se encuentra presente en las dos especies en estudio, siendo éste uno de los ácidos grasos que se presentó con mayor porcentaje en ambos aceites

obteniendo mayor porcentaje en el aceite de Guanaba (3.67%) que en el de Chincuya (3.56%).

El ácido oleico es un ácido graso monoinsaturado de la serie omega 9 típico de los aceites vegetales como el aceite de oliva, del aguacate, etc.

La capa más externa de la piel de los mamíferos, el estrato córneo, presenta una significativa barrera para la administración transdérmica de fármacos (Naik et. al. 1995). Potenciadores de la penetración, como el ácido oleico, **aumentan la permeabilidad de la piel**, dicho ácido graso, parece actuar de manera selectiva sobre los lípidos extracelulares que representan el principal canal regulador de la penetración de los pequeñas moléculas. Siendo de gran utilidad para utilizarse tanto en cosmética como en el área farmacéutica.

Algunos estudios afirman que la ingesta de este ácido graso ejerce una acción beneficiosa en los vasos sanguíneos reduciendo el riesgo de sufrir enfermedades cardiovasculares y hepáticas. El ácido oleico podría aportar un gran valor nutricional y ser de buen uso en el área alimenticia. Estudios han sugerido una asociación inversa entre la ingesta de grasas monoinsaturadas, y la mortalidad total por enfermedades coronarias. Al realizar estudios se encontró que el consumo de ácido oleico es beneficioso al afectar los niveles séricos de lípidos totales y triglicéridos entre otros. El ácido oleico podría tener efectos protectores contra complicaciones cardiovasculares de la diabetes ya que los lípidos totales y los niveles de triglicéridos fueron afectados beneficiosamente al consumir este ácido graso (Rodríguez; Taberner.; Velasco; Lavado & Medina 2004).

Stenz, et. al. (2008), sugieren un **efecto protector natural** de parte del ácido oleico en contra de la adhesión primaria de una cepa de *Staphylococcus aureus*. Como es bien sabido *S. aureus* es responsable de una amplia variedad de infecciones crónicas, por lo que podría ser de mucha utilidad en el área farmacéutica.

El ácido linoléico, de la serie omega seis, se encuentra presente en las dos especies en estudio, encontrándose mayoritariamente en el aceite obtenido de la Chincuya (3.68%), mientras que en el aceite de Guanaba (2.80%) fue el segundo ácido graso mayoritario obtenido.

El ácido linoléico es, sin duda, uno de los más importantes ácidos grasos poliinsaturados en la alimentación humana debido a su prevención de distintos, trastornos cardiovasculares, como enfermedades coronarias, la aterosclerosis y la hipertensión arterial entre otros que son prevenidas por grasas de la dieta rica en ácido linoleico (Ajayi, Oderinde, Ogunkoya, Egunyomi y Taiwo, 2007). Bettaieb, et.al. (2011) menciona que el ácido linoléico posee un efecto beneficioso sobre los lípidos sanguíneos, reduciendo la presión arterial y el colesterol sérico. El ácido linoléico en combinación con el araquidónico se utiliza para el tratamiento de piel descamada y caída del cabello. Además es componente esencial de la dieta por conformar los fosfolípidos y lipoproteínas. (Wilkinson, 1990)

El ácido linolénico, de la serie omega tres, se encuentra presente en las dos especies en estudio, Chincuya (0.19%) y Guanaba (0.12%), éste al igual que el ácido linoléico es esencial en el control del equilibrio lipídico y es muy escaso en las fuentes alimenticias de origen vegetal, como se logró evidenciar también en el presente estudio.

El ácido esteárico también se encuentra presente en las especies de anona en estudio, presentando porcentajes de 0.27% para la Chincuya y 0.24% para la Guanaba. La literatura reporta que es insoluble en agua y soluble en compuestos apolares como alcohol y éter, esto se le atribuye porque posee propiedades tensoactivas. Es por ello que el ácido esteárico es utilizado para la formación de jabones y cosméticos y como emulgente proporcionando viscosidad y dureza. El ácido esteárico es absorbido fácilmente por la piel (Peral, 2011). Monje-Rojas (2006), cita en su publicación que el ácido esteárico tiene un pequeño efecto sobre

los niveles de colesterol total y triglicéridos, razón por la cual su importancia en el riesgo de evento cerebrovascular ha sido minimizada. No obstante, otros autores, han mostrado que el ácido esteárico puede reducir los niveles de triglicéridos de forma importante, particularmente en mujeres.

El ácido palmítico se encuentra presente en ambas especies en estudio, siendo el ácido graso saturado presente con mayor porcentaje; la especie promisoría para su obtención es la Guanaba (0.93%). Es útil en la reducción del colesterol plasmático (Ajayi, et.al. 2007) y es bastante utilizado en la fabricación de biocombustibles. En el aceite de Chincuya se obtuvo un porcentaje de rendimiento de 0.73%.

Además de los usos sugeridos por estudios recientes, los ácidos grasos tienen numerosas aplicaciones en la industria, como las que se mencionan a continuación. El ácido esteárico, oleico, palmítico, mirístico y láurico se emplean en la fabricación de jabones, como agentes tensioactivos, elaboración de cosméticos y productos farmacéuticos, suavizantes textiles y emulgentes. El ácido esteárico, oleico y palmítico se utiliza en pinturas y barnices, caucho, velas, ceras, lubricantes, desinfectantes e insecticidas. El ácido esteárico, oleico y láurico se utilizan en la fabricación de resinas alquiladas (plásticos). El ácido esteárico y oleico, además son utilizados en papelería (Rodríguez, 1998).

Así mismo, se han elaborado las fichas técnicas tipo COGUANOR de los aceites fijos de las especies en estudio, las cuales se incluyen en el anexo No. 7 y contienen toda la revisión bibliográfica realizada en los centros de información y bases de datos disponibles, así como también las metodologías verificadas a lo largo del presente estudio. Las cuáles servirán de antecedentes para futuras investigaciones y de consulta para las personas e instituciones interesadas.

## 9. CONCLUSIONES

- 9.1. El porcentaje de aceite fijo de la *Annona purpurea* (Chincuya) se encuentra alrededor del 6% mientras que el de *Annona muricata* (guanaba) alrededor del 3%.
- 9.2. Los aceites fijos en estudio mostraron apariencia de un líquido denso a temperatura ambiente lo que indica que poseen mayor proporción de ácidos grasos insaturados.
- 9.3. Los índices fisicoquímicos señalan la presencia de ácidos grasos insaturados de cadena larga, que permanecen líquidos a temperatura de refrigeración, resistentes a la hidrólisis y lipólisis, lo cual coincide con el perfil de ácidos grasos.
- 9.4. En el aceite fijo de la *Annona muricata* (guanaba), se identificaron y cuantificaron diez ácidos grasos, entre los más abundantes se encuentra el ácido oleico, linoléico y el palmítico.
- 9.5. Se determinó el perfil de ácidos grasos del aceite fijo de las semillas de *Annona purpurea* (Chincuya), se identificaron y cuantificaron ocho ácidos grasos, los más abundantes fueron el ácido oleico, el linoléico y el ácido palmítico.
- 9.6. Por la presencia de ácido oleico, esteárico y palmítico, los aceites en estudio pueden utilizarse en la industria de jabones, tensoactivos, cosméticos, productos farmacéuticos, pinturas, barnices, caucho, velas y ceras, desinfectantes, insecticidas, plásticos, lubricantes y emulgentes.
- 9.7. Los aceites fijos en estudio presentan una buena fuente de ácido oleico, linoléico, palmítico y en menor cantidad de linolénico, por lo que, previa evaluación toxicológica, podrían ser de gran valor alimenticio por los beneficios a la salud de los ácidos grasos omega tres y seis.

## 10. RECOMENDACIONES

- 10.1. Investigar la toxicidad *in vivo* de los aceites para recomendar su uso como alimento o ingrediente alimenticio.
- 10.2. Investigar la posibilidad de utilizar los aceites de *Annona muricata* (guanaba) y *Annona purpurea* (Chincuya) como fuente de ácido oleico, tomando en cuenta su efecto beneficioso en la prevención de enfermedades cardiovasculares, actividad antimicrobiana y penetración de la piel.
- 10.3. Determinar la factibilidad de utilizar los aceites de *Annona muricata* (guanaba) y *Annona purpurea* (Chincuya) como fuente de ácido linoléico, el cual es esencial para la alimentación del ser humano.
- 10.4. Investigar las condiciones de cultivo y manejo para obtener aceites de calidad industrial para la *Annona muricata* (guanaba) y *Annona purpurea* (Chincuya).
- 10.5. Refinar los aceites de *Annona muricata* (guanaba) y *Annona purpurea* (Chincuya) para determinar si son útiles para el proceso de freído.
- 10.6. Investigar la capacidad antioxidante de los aceites para generar información sobre su actividad biológica y recomendar su uso en preparaciones cosméticas antiedad.
- 10.7. Determinar la actividad biocida de los aceites en estudio.

## 11. REFERENCIAS

- AOAC, 1995. Official Methods of Analysis of AOAC International, vol. 2, 16<sup>th</sup> ed. Association of Official Analytical Chemistry. Arlington. TX. pp. 1-30.
- Arango, G. J. (2002). *Metabolitos primarios de interés farmacognóstico*. Universidad de Antioquía, Facultad de Química Farmacéutica, Retrieved from [farmacia.udea.edu/~ff/carbohidratos2001.pdf](http://farmacia.udea.edu/~ff/carbohidratos2001.pdf)
- Badui, S. (2006). *Química de los alimentos*. (4<sup>a</sup> ed). Atlacomulco, México: Pearson Educación.
- Bailey, A. (1984). *Aceites y grasas industriales*. (2 ed). España, Barcelona: Editorial Reverte. p. 746.
- Cardiazabal, 1991. Cultivo de chirimoyo en Chile. Universidad Católica de Valparaíso. In: Jornadas de La Asociación de Productores de Frutos Subtropicales. Almuñecar Nov. 1991. Junta de Andalucía. Consejería de Agricultura y Pesca. p. 356-358
- Castro, J. J. (2007). *Cultivo de la anona (Annona cherimola, Mill)*. Costa Rica: Ministerio de Agricultura y Ganadería. Agencia de Servicios Agropecuarios de Aserri, Sistema Unificado de Información Institucional; Fundación para el fomento y promoción de la investigación y transferencia de tecnología agropecuaria en Costa Rica. p. 42.
- Cromatograma 37-Component FAME mix on the equity-1*. (2009). Sigma-Aldrich Co. All Rights Reserved.
- Fallon, J., Busboom, J., Nelson, M. & Gaskins, C. (2007). A direct method for fatty acid methyl ester synthesis: Application to wet meat tissues, oils and feedstuffs. *J. Anim. Sci.*, 85: 1511-1521.

- Firestone, D. & Yurawecz, M. (Eds.). (2005). Oils and Fats. En Horwitz, W. & Latimer, G. (Eds.), *Oficial Methods of Análisis, current through revision 1, 2006*. (18ª ed.). USA: AOAC International. pp. chapter 41: 1-30.
- Franco, D. (2007) *Oleaginosas, Aceites vegetales, Proceso de elaboración*. Ministerio de Agricultura, Ganadería y pesca. Argentina. pp. 82
- Ganduglia, F. (2009). *Manual de biocombustibles*. . Argentina: IICA/ARPEL (Asociación Regional de Empresas de Petróleo y Gas Natural en Latinoamérica y El Caribe. pp. 180-185.
- García, E. 1956. La chirimoya. (*Annona cherimola*, Mill). Ministerio Agricultura. Estación Experimental Agrícola, Perú, "La Molina". Circular Nº 71. 25 p.
- Gayol, F, Labuckas, D., Nicotra, V., Oberti, J & Guzmán, C. (2009). Simmondsins quantification by spectrophotometry UV-vis in press cake and in joroba seeds (*Simmondsia chinensis* (Link) Schneider), from Argentina. *J. Ind Crop.*, 29: 177-181.
- Gennaro, A. (2003). *Remington farmacia*. (20 ed., Vol. 1). Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana. pp. 477-479
- Kiristakis, A. y Markasis, P. (1978) *Olive oil: a review*. Advance in food Research. Vol 31, p 453-482.
- Kirk, R., Sawyer, R. & Egan, H. (2008). *Composición y Análisis de los Alimentos de Pearson*. (2ª ed). México: Grupo Editorial Patria. p. 225
- Luna, G. (2007). *Análisis fisicoquímico y evaluación del rendimiento de extracción del aceite de semilla de morro (*Crescentia alata hbk*) proveniente de las regiones de Estanzuela, Zacapa y San Agustín Acasaguastlán, El Progreso*. Informe Final de Tesis para optar el Título de Ingeniera Química, Facultad de Ingeniería, Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.

- Mahdeem, H. (n.d.). *La agricultura en Mesoamérica: Anonas*. Retrieved from [http://www.rlc.fao.org/es/agricultura/produ/cdrom/contenido/libro09/Cap2\\_5.htm](http://www.rlc.fao.org/es/agricultura/produ/cdrom/contenido/libro09/Cap2_5.htm)
- McMURRY, J. (2005). *Química orgánica*, (6ª ed). Cengage Learning. p. 78
- Morrison, R. (1999). *Química orgánica*. (4 ed.). México: McGraw-Hill. pp. 291
- Norma COGUANOR NGO 34 072 h2. (1982). *Aceites y grasas comestibles. Determinación del índice de yodo. Método de Wijs*. Guatemala: Diario Oficial.
- Norma COGUANOR NGO 34 073. (1975). *Aceites y grasas comestibles. Toma de muestras*. Guatemala: Diario Oficial.
- Norma COGUANOR NGO 34 072 h1. (1982). *Aceites y grasas Comestibles. Determinación del índice de saponificación*. Guatemala: Diario Oficial.
- Norma COGUANOR NGO 34 072 h12. (1982). *Aceites y grasas comestibles. Prueba de rancidez. Ensayo de Kreis*. Guatemala: Diario Oficial.
- Norma COGUANOR NGO 34 072 h13. (1982). *Aceites y grasas comestibles. Prueba de frío*. Guatemala: Diario Oficial.
- Orellana, A., & Martínez, E. (2001). *Distribucion geográfica de anonaceas en Guatemala*. University of Florida: REMERFI. Retrieved from <http://ufdc.ufl.edu/UF00071961/00001>
- Organización Mundial de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). (1979-1998). *Anuarios de Producción*, Vol 5, 35-44. Roma.
- Organización Mundial de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). (2006). *Fichas Técnicas Productos Frescos y Procesados: Frutas*. Retrieved from

[http://www.fao.org/inpho\\_archive/content/documents/vlibrary/AE620s/Pfrescos/GUANABANA.HTM](http://www.fao.org/inpho_archive/content/documents/vlibrary/AE620s/Pfrescos/GUANABANA.HTM)

- Pamplona, J. (2002). *Enciclopedia de los alimentos y su poder curativo. Tratado de bromatología y dietoterapia*. (1 ed., Vol. 2). Biblioteca educación y salud. Editorial Safeliz. pp. 62
- Peiretti, P. & Gai, F. (2009). Fatty acid and nutritive quality of chia (*Salvia hispanica* L.) seeds and plant during growth. *Animal Feed Science and Technology* 148(2009) pp. 267-275.
- Silva, D. (2012, 10 02). ¿Cuál es el mejor aceite para cocinar? *ContigoSalud*, DOI: [www.contigosalud.com](http://www.contigosalud.com)
- Villar, L. (1998). *La flora silvestre de Guatemala*. Guatemala: Editorial Universitaria Universidad de San Carlos de Guatemala. pp. 99.

## 12. ANEXOS

**Anexo 1:** Colecta *Annona muricata* (Guanaba)

**Anexo 2:** Colecta *Annona purpurea* L. (Chincuya)

**Anexo 3:** Cromatograma obtenido en el Laboratorio Nacional de Salud (LNS) del estándar.

**Anexo 4:** Cromatogramas obtenidos en el Laboratorio Nacional de Salud (LNS) de la Guanaba.

**Anexo 5:** Cromatogramas obtenidos en el Laboratorio Nacional de Salud (LNS) de la Chincuya.

**Anexo 6:** Cromatograma obtenido en el Laboratorio de la Universidad del Valle de Guatemala (UVG) de la Guanaba

**Anexo 7:** Fichas técnicas tipo COGUANOR

## ANEXO No. 1

## COLECTA

*Annona muricata* (Guanaba)

Es la mayor de todas las anonas, pudiendo alcanzar hasta dos kilos de peso. Tiene la forma de riñón y se halla recubierta de suaves púas. Su pulpa tiene un sabor bastante ácido, por lo que no suele consumirse fresca, sino en jugos, helados y confituras.

La guanaba es astringente, colagoga y digestiva. Se recomienda en caso de estreñimiento, obesidad, hipertensión, enfermedades cardíacas y diabetes. (Pamplona, 2002)

Anexo No. 2

COLECTA

*Annona purpurea* L. (Chincuya)



**Anexo No. 3**

**Cromatograma obtenido en el Laboratorio Nacional de Salud (LNS)  
del estándar**

**Anexo No. 4**

**Cromatogramas obtenidos en el Laboratorio Nacional de Salud (LNS) de la  
Guanaba**

**Anexo No. 5**

**Cromatogramas obtenidos en el Laboratorio Nacional de Salud (LNS) de la  
Chincuya**

## Anexo No. 6

**Cromatograma obtenido en el Laboratorio de la Universidad del Valle de  
Guatemala (UVG) de la Guanaba**

Análisis de aceite fijo de la especie de Guanaba por Cromatografía de gases con  
detector de llama

Especie	Ácido graso	Tiempo de retención
<i>Annona purpurea</i> (Guanaba)	Ácido palmítico	11.975
	Ácido 9-dodecanoico	12.575
	Ácido octadecanoico	14.022
	Ácido oleico	14.690
	Ácido linoléico	15.641
	Ácido metilisoheptadecanoico	16.155
	Ácido Cis- 11,14,17 Eicosatrienoico	16.756

Fuente: Datos experimentales obtenidos en Laboratorio Universidad del Valle de  
Guatemala

FIGURA No. 1. Hoja de datos de la especie *Annona purpurea* (Guanaba)

Library Search Report

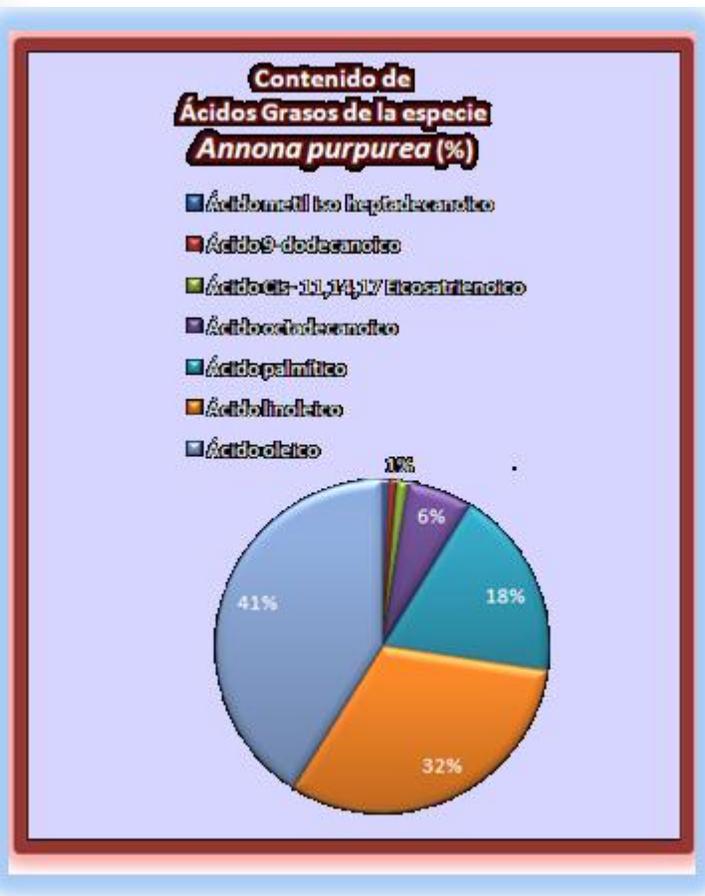
Data Path : C:\msdchem\1\DATA\SERVICIO\USAC\  
 Data File : 12031008.D  
 Title :  
 Acq On : 3 Dec 2010 12:06  
 Operator : AdeM  
 Sample : guanaba-2  
 Misc :  
 ALS Vial : 7 Sample Multiplier: 1

Search Libraries: C:\Database\NIST05a.L Minimum Quality: 0

Unknown Spectrum: Peak average  
 Integration Events: ChemStation Integrator - events.e

PK#	RT	Area%	Library/ID	Ref#	CAS#	Qual
1	11.975	18.57	C:\Database\NIST05a.L			
			Hexadecanoic acid, methyl ester	105644	000112-39-0	97
			Pentadecanoic acid, 14-methyl-, methyl ester	105662	005129-60-2	95
			Hexadecanoic acid, methyl ester	105645	000112-39-0	93
2	12.575	0.77	C:\Database\NIST05a.L			
			Cyclohexylmethyl formate	18945	002888-49-5	12
			Oxalic acid, allyl hexadecyl ester	154534	1000309-24-4	12
			2-Propen-1-one, 1-cyclopropyl-	2757	059819-62-4	11
3	14.022	6.31	C:\Database\NIST05a.L			
			Octadecanoic acid, methyl ester	123709	000112-61-8	97
			Octadecanoic acid, methyl ester	123700	000112-61-8	94
			Heptadecanoic acid, methyl ester	114851	001731-92-6	86
4	14.690	41.02	C:\Database\NIST05a.L			
			9-Octadecenoic acid, methyl ester, (E)-	122326	001937-62-8	99
			9-Octadecenoic acid (E)-, methyl ester	122323	000112-62-9	99
			11-Octadecenoic acid, methyl ester	122308	052380-33-3	95
5	15.641	31.58	C:\Database\NIST05a.L			
			9,12-Octadecadienoic acid (Z,E)-, methyl ester	121105	000112-63-0	99
			9,12-Octadecadienoic acid, methyl ester	121093	002462-85-3	99
			9,12-Octadecadienoic acid (Z,E)-, methyl ester	121107	000112-63-0	98
6	16.155	0.63	C:\Database\NIST05a.L			
			Hexadecanoic acid, 15-methyl-, methyl ester	114867	006929-04-0	9
			2-Methyl-1,6-dioxaspiro[4.4]nonane	19052	005451-15-0	5
1-Propanol, 2-methyl-	838	000078-83-1	4			
7	16.756	1.12	C:\Database\NIST05a.L			
			1,3-Cyclooctadiene	5270	001700-10-3	52
			10-Undecyn-1-ol	34843	002774-84-7	45
			Cyclohexane, 3-ethenyl-	5292	000766-03-0	43

AC.ESENCIAL...angoSCAN 2.M Fri Dec 03 14:59:41 2010



Fuente: Datos experimentales obtenidos en Laboratorio de Universidad del Valle de Guatemala con Cromatografía de Gases con detector de masas, a fin de identificar y asegurar la veracidad de los mismos.

Anexo No. 7

Fichas Técnicas tipo COGUANOR

7.1. *Annona muricata* L. (Annonaceae)

7.2. *Annona purpurea* Moc. & Sessé ex Dunal (Annonaceae)