

FECHA ENERO-JUNIO 2013

SUBSECRETARÍA DE EDUCACION SUPERIOR

DIRECCION GENERAL DE EDUCACION SUPERIOR  
TECNOLOGICA

INSTITUTO TECNOLOGICO DE TUXTLA GUTIERREZ



SECRETARÍA DE  
EDUCACIÓN PÚBLICA



SEP

# INFORME TÉCNICO DE RESIDENCIA PROFESIONAL

## INGENIERIA BIOQUÍMICA

**PRESENTA:**

**Nolasco Arroyo Brenda Yesenia**

### NOMBRE DEL PROYECTO

**“CINÉTICA DE EXTRACCIÓN DE ACEITE DE PIÑÓN  
(*Jatropha curcas* L.) Y CACATÉ (*Oecopetalum  
mexicanum*) EMPLEANDO ENZIMA”**

### ASESORA

**DRA. SANDY LUZ OVANDO CHACÓN**

### REVISORES

**DR. ARNULFO ROSALES QUINTERO**

**DR. MIGUEL ABUD ARCHILA**



## Tabla de contenido

### CONTENIDO

INDICE DE FIGURAS.....	iv
INDICE DE TABLAS.....	v
INTRODUCCION.....	vi
<b>Capítulo I.- CARACTERIZACIÓN DEL PROYECTO Y DIMENSIONAMIENTO DEL PROBLEMA. ....</b>	<b>1</b>
<b>1.1 DEFINICIÓN DEL PROBLEMA .....</b>	<b>1</b>
<b>1.2 OBJETIVOS.....</b>	<b>1</b>
<b>1.3 OBJETIVOS ESPECIFICOS.....</b>	<b>1</b>
<b>1.4 ALCANCES.....</b>	<b>1</b>
<b>1.5 LIMITACIONES.....</b>	<b>2</b>
<b>Capitulo 2.- CARACTERIZACIÓN DE ÁREA DONDE SE REALIZO EL PROYECTO. ....</b>	<b>3</b>
<b>2.1 HISTORIA DEL INSTITUTO TECNOLÓGICO DE TUXTLA GUTIERREZ.....</b>	<b>3</b>
2.1.1 Misión.....	4
2.1.2 Visión.....	4
2.1.3 Valores.....	4
2.1.4 Políticas.....	4
2.1.5 Objetivos de la institución.....	5
2.1.6 Servicios que presta la institución.....	5
<b>2.2 DESCRIPCIÓN DEL DEPARTAMENTO DE INGENIERIA QUÍMICA Y BIOQUÍMICA.....</b>	<b>6</b>
2.2.1 Funciones del departamento de ingeniería química y bioquímica.....	6
<b>2.3 LUGAR DONDE SE LLEVO A CABO EL PROYECTO.....</b>	<b>8</b>

<b>2.4 JUSTIFICACIÓN.....</b>	<b>8</b>
<b>Capitulo 3.- ANTECEDENTES.....</b>	<b>10</b>
<b>3.1 GENERALIDADES DEL FRUTO DE CACATÉ (<i>Oecopetalum mexicanum</i>).....</b>	<b>10</b>
<b>3.2 GENERALIDADES DE LA PLANTA DE PIÑÓN (<i>Jatropha curcas</i> L.).....</b>	<b>11</b>
3.2.1 Taxonomía y morfología vegetal.....	12
3.2.2 Fisiología vegetal.....	14
3.2.3 Hábitat.....	14
3.2.4 Distribución geográfica de la <i>Jatropha curcas</i> L.....	15
3.2.5 Usos de la <i>Jatropha curcas</i> L.....	16
<b>3.3 NATURALEZA DE LAS SEMILLAS OLEAGINOSAS.....</b>	<b>16</b>
<b>3.4 COMPOSICIÓN BROMATOLÓGICA DE LA SEMILLA DE CACATÉ (<i>Oecopetalum mexicanum</i>).....</b>	<b>18</b>
3.4.1 Caracterización de la harina.....	18
3.4.2 Características generales.....	19
3.4.3 Composición bromatológica de la semilla de cacaté.....	19
<b>3.5 COMPOSICIÓN BROMATOLÓGICA DE LA SEMILLA DE PIÑÓN (<i>Jatropha curcas</i> L.).....</b>	<b>21</b>
3.5.1 Determinaciones bromatológicas.....	21
<b>3.6 MÉTODOS DE EXTRACCIÓN DE ACEITE.....</b>	<b>21</b>
3.6.1 Pretratamiento mecánico.....	22
3.6.1.1 Preparación de las semillas oleaginosas.....	22
3.6.2 Extracción por prensado.....	24
3.6.3 Extracción con solventes.....	25



3.6.4 Extracción acuosa enzimática.....	27
<b>3.7 ENZIMAS.....</b>	<b>28</b>
<b>3.8 INVESTIGACIONES REALIZADAS APLICANDO EL METODO DE EXTRACCION ACUOSO ENZIMÁTICO.....</b>	<b>30</b>
<b>Capítulo 4.- MATERIALES Y METODOS.....</b>	<b>35</b>
<b>4.1 MATERIA PRIMA.....</b>	<b>35</b>
4.1.1 Cacaté ( <i>Oecopetalum mexicanum</i> ).....	35
4.1.2 Localización geográfica del cacaté.....	35
4.1.3 Piñón ( <i>Jatropha curcas</i> L.).....	36
4.1.4 Localización geográfica de piñón.....	36
<b>4.2 METODOLÓGIA PARA LA EXTRACCIÓN ACUOSA ENZIMÁTICA DE ACEITE DE CACATÉ Y PIÑÓN.....</b>	<b>37</b>
<b>4.3 ENZIMA.....</b>	<b>38</b>
<b>4.4 EXTRACCIÓN ACUOSA ENZIMÁTICA.....</b>	<b>38</b>
<b>4.5 DISEÑO ESTADISTICO.....</b>	<b>39</b>
4.5.1 Identificación y exposición del problema.....	39
4.5.2 Etapa 1.....	39
4.5.3 Etapa 2.....	40
<b>4.6 RECUPERACIÓN DEL ACEITE.....</b>	<b>40</b>
<b>Capítulo 5.- Y RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>41</b>
<b>5.1 RECUPERACIÓN DEL ACEITE DESPUÉS DE LA HIDROLISIS ENZIMÁTICA.....</b>	<b>41</b>
<b>5.2 RENDIMIENTO DEL ACEITE.....</b>	<b>44</b>
<b>Capítulo 6.- CONCLUSIÓN.....</b>	<b>47</b>

**Capítulo 7.- REFERENCIAS.....48**

**Capítulo 8.- ANEXOS.....56**

## ÍNDICE DE FIGURAS

3.1 Hojas del genero *lcacinaceae*.....10

3.2 Semilla de cacaté.....11

3.3 Plantas y frutos verdes de *Jatropha curcas* L. (Bernal-Astorga, 2011).....13

3.4 Frutos y semillas de *Jatropha curcas* L. (Bernal-Astorga, 2011).....14

3.5 Estructura general de una semilla oleaginosa (Borraz, 2012).....17

3.6 Estructura general de la pared celular (Borraz, 2012).....17

4.1 Metodología para la extracción acuosa enzimática de aceite de piñón y cacaté.....37

5.1 Prueba de relación piñón.....42

5.2 Prueba de relación cacaté.....43

5.3 Rendimiento del aceite de *Jatropha curcas* L. En %.....45

5.4 Rendimiento del aceite de *Oecopetalum mexicanum*. En %.....46

8.1 (Anexo) Polo Tecnológico Nacional para el Desarrollo de Investigación y Pruebas Analíticas en Biocombustible.....56

8.2 (Anexo) Entrada principal del Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez.....56

8.3 (Anexo) Relieve y colindancias del municipio de Chiapa de Corzo, Chiapas...57

8.4 (Anexo) Semillas de *Jatropha curcas* seleccionadas por inspección.....58

8.5 (Anexo) Agitadora marca New Brunswich Scientific.....58

8.6 (Anexo) Centrifuga Eppendorf.....59



## INDICE DE TABLAS

3.1 Clasificación taxonómica de <i>Oecopetalum</i> .....	10
3.2 Taxonomía de <i>Jatropha curcas</i> L.....	12
3.3 Análisis bromatológico de cacaté.....	18
3.4 Rendimientos de las fracciones de la semilla de cacaté.....	19
3.5 Composición bromatológica de la semilla de cacaté.....	19
3.6 Clases de enzima según la <i>International Enzyme Commission</i> .....	28
4.2 Especificaciones de los preparados enzimáticos comerciales.....	38
4.3 Matraz y relación correspondiente. Diseño experimental.....	39
4.4 Diseño para la cinética de la hidrólisis enzimática.....	40
5.1 Piñón (prueba de relación).....	41
5.2 Piñón (prueba de relación).....	41
5.3 Cacaté (prueba de relación).....	42
5.4 Cacaté (prueba de relación).....	42
5.5 Cinética, etapa 2, resultados de las tres repeticiones de hidrólisis enzimática del piñón .....	43
5.6 Cinética, etapa 2, resultados de las tres repeticiones de hidrólisis enzimática de cacaté .....	44
5.7 Cinética, etapa 2 ,resultados de las tres replicas, rendimiento % de aceite de cada 20 g de muestra de harina de piñón .....	44
5.8 Cinética, etapa 2 ,resultados de las tres replicas, rendimiento % de aceite de cada 20 g de muestra de harina de cacaté .....	45

## INTRODUCCIÓN

La extracción del aceite de las semillas oleaginosas es un paso clave para su comercialización. En la actualidad existen los métodos de extracción de aceite mediante solventes y por prensado lo cual afecta directamente la cantidad y la calidad del aceite obtenido (Sant'Anna *et al.*, 2003) y la calidad de la harina residual (Taha y Hassanein, 2007), pero aun con estos inconvenientes siguen siendo los más utilizados en la industria (Guerra y Zúñiga, 2003; Sant'Anna *et al.*, 2003; Taha y Hassanein, 2007; De Moura *et al.*, 2008; Latif y Anwar, 2008), el problema no sólo se resume en las características del aceite, sino en el daño que los solventes causan al medio ambiente (Taha y Hassanein, 2007), y los problemas de seguridad industrial por el uso de solventes (Latif y Anwar, 2008).

El hexano en la mayoría de los casos ha sido el solvente con mayor uso en la industria de extracción del aceite de semillas oleaginosas, sin embargo debido a las cuestiones ambientales de seguridad y salud se han buscado nuevas alternativas ecológicas de extracción (Latif y Anwar, 2008), que no pongan en peligro la integridad humana, que no contaminen al ambiente y que además tengan mejor rendimiento en la extracción de aceite, además de no afectar la calidad de este.

Existe una nueva tendencia para evitar el uso de solventes tóxicos que ha renovado el interés en procesos de extracción alternativos (Taha y Hassanein, 2007; De Moura *et al.*, 2008; Latif y Anwar, 2008) como la extracción con fluidos supercrítico y el uso del agua como agente económico de extracción de aceite (Johnson y Lucas, 1983). La extracción acuosa del aceite ha emergido como una técnica competente para la extracción de aceite de ciertos materiales oleaginosos (Shi *et al.*, 1998).

En los últimos años, se han descrito diversas investigaciones referentes a la extracción acuosa de aceites vegetales asistida por enzimas, ofreciendo diversas ventajas comparadas con la extracción convencional. El objetivo principal del uso de las enzimas durante la extracción acuosa del aceite es hidrolizar la estructura de los polisacáridos que forman la pared celular de las semillas oleaginosas o las proteínas que forman la membrana celular y los cuerpos lipídicos (Taha y Hassanein, 2007; Latif y Anwar, 2008).

En la actualidad existen preparados enzimáticos comerciales de grado alimenticio con actividad múltiple como celulasa, hemicelulasa y pectinasa; que se aplican a



las semillas oleaginosas con la finalidad de hidrolizar los componentes de la pared celular de los tejidos (Ovando – Chacón y Waliszewski, 2005).

Cada semilla oleaginosa tiene una composición estructural específica por lo que la elección del sistema enzimático es crítico para la eficiencia en la extracción de aceite. Por otro lado, las condiciones de reacción tales, como pH, temperatura, concentración de enzima y tiempo de reacción, influyen sobre el grado de hidrólisis y efectividad del proceso (Taha y Hassanein, 2007). Este tipo de preparados enzimáticos marcan la diferencia en cuanto a la estabilidad, la calidad y el grado nutricional del producto extraído (Ovando Chacón y Waliszewski, 2005).

## Capítulo I.- CARACTERIZACIÓN DEL PROYECTO Y DIMENSIONAMIENTO DEL PROBLEMA.

### 1.1 DEFINICIÓN DEL PROBLEMA

Los métodos de prensado y con solventes comúnmente utilizados en la industria para la extracción de aceite de semillas oleaginosas tienen muchas desventajas, ya que en el caso del presado existe poco rendimiento y la utilización de hexano como solvente trae consigo problemas ambientales de salud y de seguridad, además de que estos métodos convencionales afectan directamente la calidad del aceite extraído. Por lo tanto, se buscan alternativas que no dañen al ambiente y que además no afecten los rendimientos y la calidad de la misma.

### 1.2 OBJETIVOS

Evaluar el comportamiento cinético del proceso de extracción del aceite de piñón y cacaté empleando enzima.

### 1.3 OBJETIVOS ESPECIFICOS

.Evaluar la influencia de la relación sólido: líquido sobre el rendimiento de extracción de aceite en medio acuoso mediante la adición de enzimas.

.Determinar y comparar en qué relación sólido: líquido se obtiene la mayor cantidad de aceite.

.Optimizar en qué condiciones del proceso se maximizan los rendimientos en la extracción de aceite.

.Desarrollar experimentalmente la cinética de extracción de aceite en las condiciones adecuadas del proceso.

### 1.4 ALCANCES

Este proyecto se realizará como una alternativa en la extracción de aceite de *Jatropha curcas* L. (combustible) y de *Oecopetalum mexicanum* (aceite comestible) y que también podrá servir para otras semillas oleaginosas, este método al ser con enzimas reducirá considerablemente las pérdidas que se generan en el método de extracción por prensado y al ser un proceso acuoso se reduce la contaminación por solventes.



## 1.5 LIMITACIONES

El laboratorio no cuenta con una centrifuga de altas revoluciones y refrigerada para la separación del aceite, y además se tiene que esperar mucho tiempo a que sedimente.

No se conto con suficiente materia prima, por lo que en la etapa 2 donde se realizó la cinética no se siguió la relación sólido: líquido optimizada para mejor rendimiento de aceite de piñón, se realizaron las cinéticas usando la relación reportada por Alfaro, (2012).



## **Capítulo 2.- CARACTERIZACIÓN DE ÁREA DONDE SE REALIZÓ EL PROYECTO**

### **2.1 HISTORIA DEL INSTITUTO TECNOLÓGICO DE TUXTLA GUTIÉRREZ**

En la década de los 70's, se incorpora el estado de Chiapas al movimiento educativo nacional extensión educativa, por intervención del Gobierno del Estado de Chiapas ante la federación. Esta gestión dio origen a la creación del Instituto Tecnológico Regional de Tuxtla Gutiérrez (ITRTG) hoy Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez (ITTG).

El día 23 de agosto de 1971 el Gobernador del Estado, Dr. Manuel Velasco Suárez, colocó la primera piedra de lo que muy pronto sería el Centro Educativo de nivel medio superior más importante de la entidad. El día 22 de octubre de 1972, con una infraestructura de 2 edificios con 8 aulas, 2 laboratorios y un edificio para talleres abre sus puertas el Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez con las carreras de Técnico en Máquinas de Combustión Interna, Electricidad, Laboratorista Químico y Máquinas y Herramientas.

En el año 1974 dio inicio la modalidad en el nivel superior, ofreciendo la carrera de Ingeniería Industrial en Producción y Bioquímica en Productos Naturales. En 1980 se amplió la oferta educativa al incorporarse las carreras de Ingeniería Industrial Eléctrica e Ingeniería Industrial Química.

En 1987 se abre la carrera de Ingeniería en Electrónica y se liquidan en 1989 las carreras del sistema abierto del nivel medio superior y en el nivel superior se reorientó la oferta en la carrera de Ingeniería Industrial Eléctrica y se inicia también Ingeniería Mecánica. En 1991 surge la licenciatura en Ingeniería en Sistemas Computacionales.

Desde 1997 el Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez ofrece la Especialización en Ingeniería Ambiental como primer programa de postgrado.

En 1998 se estableció el programa interinstitucional de postgrado con la Universidad Autónoma de Chiapas para impartir en el Instituto Tecnológico la Maestría en Biotecnología.

En el año 1999 se inició el programa de Maestría en Administración como respuesta a la demanda del sector industrial y de servicios de la región. A partir de 2000 se abrió también la Especialización en Biotecnología Vegetal y un año



después dio inicio el programa de Maestría en Ciencias en Ingeniería Bioquímica y la Licenciatura en informática.

### **2.1.1 Misión**

Formar de manera integral profesionales competentes, en el campo de la ciencia y la tecnología, con actitud emprendedora, respeto al medio ambiente y apego a los valores Institucionales.

### **2.1.2 Visión**

Ser una Institución de excelencia en la educación superior tecnológica, comprometida con el desarrollo socioeconómico, sostenido y sustentable de la región.

### **2.1.3 Valores**

- El ser humano
- El espíritu de servicio
- El liderazgo
- El trabajo en equipo
- La calidad
- El alto desempeño

### **2.1.4 Políticas Y Normas**

Ser una oferta educativa tecnológica suficiente a nivel superior y postgrado, en las modalidades escolarizadas y abiertas, con perfiles profesionales acorde a los retos de todas las regiones del país.

Compartir con la población en general los beneficios de conocimiento, la cultura científica y tecnológica; en particular, proporcionar al público, con la finalidad de coadyuvar al modelo de desarrollo que el país reclama, para alcanzar el bienestar social que demandamos los mexicanos.



### **2.1.5 Objetivos de la institución**

Promover el desarrollo integral y armónico del educando con los demás, consigo mismo y con su entorno, mediante una formación intelectual que lo capacite en el manejo de los métodos y los lenguajes sustentados, en los principios de identidad nacional, justicia, democracia, cultura, que le permiten una mente y cuerpo sanos.

### **2.1.6 Servicios que presta la institución**

- Atender la demanda de educación superior y postgrado con alta calidad nacional e internacional en las áreas industriales, agropecuarias y de servicios, en todas las regiones del país, como la forma de auspiciar el desarrollo regional.

Se imparten 8 carreras a nivel Licenciatura, las cuales son: Ingeniería Bioquímica, Ingeniería Eléctrica, Ingeniería Electrónica, Ingeniería Industrial, Ingeniería Mecánica, Ingeniería Química, Ingeniería en Gestión Empresarial e Ingeniería en Sistemas Computacionales. Además se oferta el postgrado con la Maestría en Ciencias en Ingeniería Bioquímica y la Maestría en Ciencias en Ingeniería en Mecatrónica.

- Hacer de cada uno de los institutos Tecnológicos un instrumento de desarrollo mediante una estrecha y permanente retroalimentación con la comunidad, en especial entre los sectores productivos de bienes y servicios, sociales, públicos y privados.
- Promover y convocar a los sectores productivos y educativos de cada localidad para generar y otorgar apoyos materiales y financieros adicionales, requeridos en la operación de los planteles.
- Compartir con la comunidad la cultura científica tecnológica y humanista, así como la recreación y el deporte, mediante los diversos foros y medios con que cuenta el sistema.



- Oferta de perfiles profesionales que integran las necesidades específicas regionales, para que el egresado contribuya de manera satisfactoria al desarrollo de cada comunidad, en especial a la planta educativa.
- Actualizar de manera permanente al personal docente y administrativo, para favorecer el desarrollo armónico entre toda la comunidad tecnológica.

## **2.2 DESCRIPCIÓN DEL DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA QUÍMICA Y BIOQUÍMICA**

Este departamento se encarga de planear, coordinar, controlar y evaluar las actividades de docencia, investigación y vinculación en las áreas correspondientes a la Ingeniería Química y Bioquímica que se imparte en el Instituto Tecnológico, de conformidad con las normas y lineamientos establecidos por la Secretaría de Educación Pública, además de elaborar el programa educativo anual y el anteproyecto de presupuesto del departamento y presentarlo a las Subdirección Académica para lo conducente.

También se encarga de aplicar la estructura orgánica autorizada para el departamento de procedimientos establecidos.

### **2.2.1 Funciones del departamento de ingeniería química y bioquímica**

Las funciones del departamento son múltiples por lo que tiene que coordinarse con otros departamentos:

- Coordinar con las divisiones de estudios profesionales y postgrado e investigación, la aplicación de programas de estudios y con el departamento de desarrollo académico, los materiales y apoyos didácticos a las asignaturas de las correspondientes a las áreas de Ingeniería Química y Bioquímica que se imparten en Instituto Tecnológico y controlar el desarrollo.



- Coordinar con la división de estudios profesionales y postgrado e investigación, con el departamento de desarrollo académico, la formulación y aplicación de técnicas e instrumento para la evaluación del aprendizaje de las asignaturas correspondientes en las áreas de Ingeniería Química y Bioquímica que se imparte en el Instituto Tecnológico.
- Coordinar los proyectos de investigación educativa, científica y tecnológica en las áreas de Ingeniería Química y Bioquímica que se llevan a cabo en el Instituto Tecnológico con el sector productivo de bienes y servicios de la región, así como controlar su desarrollo.
- Proponer a la Subdirección Académica el desarrollo de recurso y eventos que propicie la superación y actualización profesional del personal docente de las áreas de Ingeniería Química y Bioquímica, en el Instituto Tecnológico.
- Apoyar a la División de Estudios Profesionales en el proceso de titulación de los alumnos del Instituto.
- Superar y evaluar el funcionamiento del departamento con las demás áreas y con base a los resultados, proponer las medidas que mejoren su operación.
- Coordinar las actividades del departamento con las demás áreas de la Subdirección Académica.
- Presentar reportes periódicos de las actividades desarrolladas a la Subdirección Académica.

En el área de Ingeniería Bioquímica se cuenta con laboratorios, los cuales son utilizados para realizar las actividades experimentales correspondientes a las distintas materias impartidas en la institución, así como para la realización de proyectos de investigación que se llevan a cabo dentro del área.

## 2.3 LUGAR DONDE SE LLEVO A CABO EL PROYECTO

El proyecto se llevó a cabo en laboratorio de bromatología en el Polo tecnológico Nacional para el Desarrollo de Investigación y Pruebas Analíticas de Biocombustibles (Anexo, figura 8.1), localizados dentro del Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez, Chiapas (Anexo, figura 8.2), ubicado en Carretera Panamericana Km 1080, bajo el cargo del Ingeniero José Luis Méndez Navarro.

## 2.4 JUSTIFICACIÓN

En la actualidad no sólo vivimos en una crisis económica en todo el mundo, sino una crisis ambiental que a diferencia de la economía si no hacemos algo hoy, ya no abra marcha atrás mañana, porque estamos enfermado a la tierra por causa de las actividades humanas, por esto se busca nuevas alternativas para producir energía renovable que además ofrezca muchas ventajas sobre las fuentes energéticas actuales, por ejemplo, el uso de biocombustible y la forma de obtenerla para que no contamine. El biodiesel es una fuente energética que se obtiene del piñón (*Jatropha curca* L.) y que además se puede obtener de diversas semillas oleaginosas, siendo el piñón la que ofrece mayores ventajas, la principal es la de no afectar al sector alimenticio y al sector agrícola dado que es una planta que puede ser cultivada en suelos marginados o deforestados. Además de las semillas oleaginosas donde se obtiene las fuentes energéticas renovables, existen también frutas y semillas oleaginosas donde se obtiene aceite vegetal que de igual manera aportan gran cantidad de ácidos grasos insaturados y vitamina E como fuente de energía en la dieta humana. Estos aceites vegetales se obtienen de diversas fuentes como por ejemplo: maíz, algodón, soja, aguacate, coco, olivo, etc. Se ha encontrado que en el caso de las semillas de cacaté (*Ocotepealum mexicanum*) contienen alrededor de un 33% de grasa, esta semilla ha sido poco estudiada, lo que se conoce es que es comestible y que tiene un sabor amargo. De tal manera que de acuerdo al porcentaje de grasa que esta puede proporcionar, la semilla es considerada como otra alternativa en la extracción de aceite, no supera al porcentaje que se extrae de otras semillas como la soja o las aceitunas pero por porcentaje de grasa se estima como otra fuente. Actualmente existen diversas alternativas para la extracción de aceite de semillas oleaginosas, en la industria los más usados son, la extracción mediante el uso de solventes, empleando generalmente el hexano. En este método las semillas son sometidas a altas temperaturas, lo que hace que resulte eficiente en cuanto a rendimientos, pero la calidad del aceite es disminuida, además, en el proceso de extracción se emiten compuestos volátiles, que pueden afectar la integridad humana y además contamina al medio ambiente incrementando el calentamiento global. También



existe el método por presado que tiene la desventaja de tener pocos rendimientos. Actualmente existen alternativas para mejorar la extracción de aceite sin contaminar al ambiente usando como agente de separación el agua que tiene la ventaja de tener bajos costos de inversión y que al combinarse con alguna enzima puede facilitar la hidrólisis de los componentes de la pared celular de los tejidos, haciendo más fácil la extracción de aceite y que tiene la ventaja de no contaminar al medio ambiente y tener mejores rendimientos sin necesidad de someter a la semilla a extremas condiciones de temperaturas. En el presente trabajo, se pretende evaluar el comportamiento cinético del proceso de extracción del aceite de piñón y cacaté empleando enzima en medio acuoso y optimizar las condiciones en las cuales se obtuvieron mejores resultados.

## Capítulo 3.- ANTECEDENTES

### 3.1 GENERALIDADES DEL FRUTO DE CACATÉ (*Oecopetalum mexicanum*)

El cacaté es un árbol que pertenece a la familia *icacinacea miers* (figura 3.1). Esta familia la integran alrededor de 60 géneros y 400 especies cuya principal distribución geográfica es en regiones tropicales, aunque también algunas crecen en regiones templadas. En América se distribuyen 12 géneros. Otras zonas donde se distribuye este cultivo son la república de Guatemala, Costa Rica, África, Nueva Zelanda y Asia (Gutiérrez, 1994; Quintas, 2005). En la tabla 3.1 se encuentra la clasificación taxonómica de la planta *Oecopetalum mexicanum*.

Tabla 3.1 Clasificación taxonómica de *Oecopetalum mexicanum*

Clasificación	Taxonómica
Clase	Rosopsida
Orden	Aquifoliales
Familia	Icacinaceae
Genero	Oecopetalum
Especie	Mexicanum

En el sureste de México el cacaté se cultiva en los estados de Veracruz, Tabasco y Chiapas. En Chiapas crece principalmente en zonas como la selva lacandona, Ocosocoautla de Espinosa, San Fernando y Pichucalco (INEGI, 2005), es muy conocido como árbol de sombra de cafetales (Lascurain *et al.*, 2007); la floración se presenta entre los meses de julio a septiembre (Gutiérrez, 1994).



Figura 3.1 Hojas del género *Icacinaceae*

Dependiendo de la región donde se cultive, se conoce con diferentes nombres comunes tales como cacaté (Chiapas y Tabasco), cacaté de septiembre (Simojovel, Chiapas) o cachichin (Misantla, Veracruz) (Martínez, 1987).

Entre las características del cacaté, destaca que es un árbol de hasta 20 metros de altura, generalmente de 8 a 15 hojas alternas, medianas o grandes, elípticas u ovaladas, con margen entero u ocasionalmente dentado. La flor es blanca, de 8 mm de largo; son abundantes y vistosas. Es una planta silvestre cuyo fruto es comestible. El fruto es una drupa leñosa de color verde en su etapa inmadura y café al madurar, en la madurez es globoso ovoideo de 2-3 cm de largo y de 1-2 cm de ancho de color café (figura 3.2) (Gutiérrez, 1994).



Figura 3.2 Semilla de cacaté

Los frutos en su interior tienen una semilla blanca, grande de 7-9 mm de largo y de 7 mm de ancho; la cual se encuentra cubierta por una cascara dura (Gutiérrez, 1994). Según Cruz (2004), esta tiene un alto contenido en grasa, proteína y fibra alrededor del 33, 13 y 10% respectivamente. La semilla de esta especie es comestible, los pobladores de la región centro del Chiapas (Zoques, Tzotziles y Mestizos) lo consumen crudos o cosidos en forma de guisos, asados o hervidos (Chávez *et al.*, 2009). La semilla se caracteriza por su sabor amargo. En algunas entidades las hojas de esta especie se usan para teñir (Medina, 2000).

### 3.2 GENERALIDADES DE LA PLANTA DE PIÑÓN (*Jatropha curcas* L.)

*Jatropha curcas* L., pertenece a la familia Euphorbiaceae, es un árbol de crecimiento lento, nativo de Sudamérica, pero también se cultiva ampliamente en toda América Central, África y Asia. La *Jatropha*, es una planta vigorosa, resistente a la sequía y a las plagas, en los países tropicales donde se cultiva se usa principalmente como protección de los cultivos de ganado, ovejas y cabras que andan libremente (Francis, 2005).

La planta *Jatropha curcas* recibe diferentes nombres según el lugar de producción, es conocida como Higo de infierno, Piñón, Wassa supay (Bolivia); Chagsis, Vocudyes (Bolivia: Mosestén, La Paz; Chimane, Beni); Pião branco (Brasil); Purga, Piñón de purga, Piñón (Colombia); Piñón (Ecuador); Piñol, Piñon (Perú); Piñón de purga, Piñón de fraile, Túa-túa (Venezuela), Piñoncillo (México) (Heller, 1996).

La planta es cultivada principalmente para producir aceite, la producción de semilla es de aproximadamente 5 ton/año. De una plantación de una hectárea, se extraen dos toneladas de aceite y una tonelada de harina de la semilla, esta última es rica en proteínas. El contenido de proteína cruda, lípidos y cenizas de las semillas de *Jatropha curcas* oscila entre 27-30%, 55-62% y 3,7-5,2%, respectivamente (Makkar *et al.* 1998).

### 3.2.1 Taxonomía y morfología vegetal

El género *Jatropha* pertenece a la tribu Joannesieae de Crotonoideae de la familia Euphorbiceae que contiene aproximadamente 170 especies conocidas. Una de ellas es *Jatropha curcas* (tabla 3.2) (Heller, 1996).

Tabla 3.2 Taxonomía de *Jatropha curcas* L.

Clasificación taxonómica de la planta de <i>Jatropha curcas</i> L.	
Reino	Plantae
Filo/división	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida(Dic.)
Orden:	Euphorbiales
Familia	Euphorbiaceae
Nombre científico	<i>Jatropha curcas</i> L.

La *Jatropha curcas* L. es un arbusto o árbol pequeño de 2 a 6 m de altura con corteza blanco-grisácea, que exuda un látex translúcido. Los tallos crecen con una discontinuidad morfológica en cada incremento, es un cilindro verde robusto que produce ramas con savia láctea o rojiza viscosa, normalmente se forman 5 raíces de los árboles, 1 central y 4 periféricas, las hojas se forman normalmente con 5 a 7 lóbulos acuminados pocos profundos y grandes, tienen pecíolos largos con una longitud de 10 a 15 centímetros y anchura de 9 a 15 centímetros, las hojas ovadas se colocan de forma alterna a subalterna opuesto con una filotaxis espiral y se caen durante la época seca. Son hojas anchamente ovadas, levemente 3 a 5 lobadas, abiertamente cordadas en la base con 5 nervaduras y pubescentes en las nervaduras del envés. Las inflorescencias se forman

terminalmente en el axial de las hojas en las ramas. Se colocan diez estambres en dos espirales distintas de 5 cada uno en una sola columna en el androceo y en la proximidad íntima (figura 3.3)

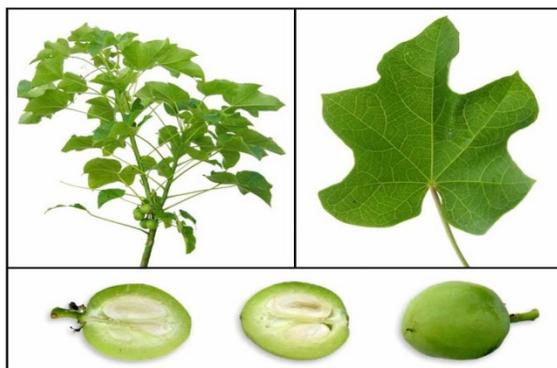


Figura 3.3 Plantas y frutos verdes de *Jatropha curcas* L. (Bernal-Astorga, 2011).

En el ginóclium, los tres estilos delgados son los conatos que están aproximadamente a dos tercios de su longitud, dilatando al estigma bifurcado macizo. Las flores son pequeñas (6-8 mm), el centro es de color verdoso-amarillo y pubescente. Los pétalos son de 6-7 mm largo. La longitud del pecíolo va entre 6-23 mm., las flores son verdosas o blanco-amarillas de 10 a 25 centímetros de largo y con un pedúnculo de 4 a 10 centímetros de largo. Las flores femeninas presentan brácteas acuminadas y las masculinas presentan brácteas ovadas y pedicelos pubescentes.

Los frutos (figura 3.4) son cápsulas drupáceas y ovoides, después de la polinización, se forma una fruta trilocular de forma elipsoidal. Las frutas son cápsulas inicialmente verde pero volviéndose a café oscuro o negro en el transcurso de la maduración. Las cápsulas de los frutos son de 2.5 a 4 centímetros de largo por 2 centímetros de ancho, elipsoidales y lisas que cuando maduran van cambiando a amarillas. Al inicio son carnosas pero dehiscentes cuando son secas. Los frutos se cosechan en invierno cuando el arbusto tira sus hojas, sin embargo, puede producir varias cosechas durante el año si la humedad de la tierra es buena y las temperaturas son suficientemente altas. Cada inflorescencia rinde un manojo de aproximadamente 10 frutos ovoides o más. El desarrollo del fruto necesita 90 días desde la floración hasta que madura la semilla.

El fruto produce tres almendras negras, cada una de aproximadamente 2 centímetros de largo y 1 centímetro de diámetro. La semilla es cosechada cuando la cápsula está madura, ocurre después de dos a cuatro meses de la

fertilización. Las semillas descascaradas negruzcas, delgadas se parecen a las semillas del ricino pequeño. El volumen de aceite es de 35-40% en las semillas y de 50-60% en el grano.



Figura 3.4 Frutos y semillas de *Jatropha curcas* L. (Bernal-Astorga 2011)

### 3.2.2 Fisiología vegetal

Con una buena humedad la germinación toma 10 días. Se abre la cáscara de la semilla, sale la radícula y se forman 4 raíces periféricas pequeñas. Poco después la primera hoja desarrolla los cotiledones, se marchitan y se caen, luego crece el simpodial. Dependiendo de las condiciones de propagación y lluvia, el primer rendimiento de la semilla es en el primer año y un árbol puede llegar a producir durante 50 años.

### 3.2.3 Hábitat

La *Jatropha curcas* L., crece casi en cualquier parte, incluso en las tierras cascajosas, arenosas y salinas, puede crecer en la tierra pedregosa más pobre, inclusive puede crecer en las hendeduras de piedras. La materia orgánica de las hojas del cobertizo refuerza la actividad del gusano de tierra alrededor de la zona de la raíz de las plantas que mejoran la fertilidad de la tierra. Climáticamente, la *Jatropha curcas* L. se encuentra en los trópicos y subtropicos, le gusta el calor aunque también las más bajas temperaturas y puede resistir una escarcha ligera. Su requisito de agua es sumamente bajo y puede resistir períodos largos de sequedad por el derramamiento de la mayoría de sus hojas para reducir la pérdida durante la transpiración.

Las temperaturas medias de los sitios de colección de procedencia van de 20 a 36 °C. Puede sobrevivir una corta y ligera escarcha pero se adapta con mayor

facilidad a las temperaturas altas. Sobreviven en climas tropicales, cálido-húmedo, templado. La precipitación media anual de sitios de colección es de 520 a 2000 mm. Sin embargo, la especie sobrevive bien en las regiones semiáridas. Crece en las tierras bien drenadas, con buena aireación y se adapta bien a las tierras marginales con un volumen de nutrientes bajo. Franco-arenoso o arcillo-arenoso con abundante materia orgánica, profundo y bien drenado porque es susceptible a inundaciones (Octagón, 2006).

### 3.2.4 Distribución geográfica de la *Jatropha curcas* L.

La distribución actual de *Jatropha curcas* muestra que la introducción humana ha sido muy satisfactoria en las regiones más secas de los trópicos. Varios científicos han tratado de definir el origen y la fuente de donde proviene la planta de *Jatropha curcas*. Esta especie probablemente fue distribuida por los portugueses en las Islas de Cabo verde y en otros países de África y Asia.

Según otras fuentes, el piñón parece ser nativo de Centro América, así como de México, donde se produce naturalmente en los bosques de las regiones costeras. Sin embargo, Dehgan al visitar el Laboratorio Sistemático Horticultural, encontró que centenares de especímenes habían sido recolectados principalmente de México y América central como: Belice, Costa Rica, El Salvador, Guatemala, Honduras, Nicaragua y Panamá. Existen muchos registros también para el Caribe: Bahamas, Cuba, República Dominicana, Haití, Puerto Rico, Santa Lucía, Santo Domingo, Santa Cruz, Trinidad y otros países del oeste de India. En los siguientes países de América del Sur, el piñón se produce en menor medida, de acuerdo a su representación en los herbarios mencionados anteriormente: Argentina, Bolivia, Brasil, Colombia, Ecuador y las Islas Galápagos, Paraguay, Perú y Venezuela. Posteriormente fue introducido a la Florida. (Makkar *et al.*, 1998).

Los especímenes de herbario de las Américas se recogieron por lo general a lo largo de carreteras, caminos y postes de cercas vivas. Sin embargo, la información proporcionada por muchos coleccionistas parece apoyar el argumento de que la especie fue obtenida de vegetación "natural" en las Américas. Es muy probable que el centro de origen de la *Jatropha* sea en México y América Central, ya que no se encuentra estas formas de vegetación en África y Asia, sin embargo el "verdadero" centro de origen, no se ha encontrado aún. Para dilucidar esto, en los sitios originales de recolección en México y América Central la diversidad existente tendría que ser revisada y evaluada, de preferencia por técnicas moleculares (Héller, 1996).

### 3.2.5 Usos de la *Jatropha curcas* L.

Los registros históricos muestran que la *Jatropha* fue utilizada por los indios nativos de Centroamérica y quizás de América del Sur en la medicina herbaria. En el año de 1836 las semillas de *Jatropha* se producían comercialmente en las islas de Cabo Verde. Las semillas fueron exportadas a Portugal y Francia y el aceite se utilizaba para el alumbrado de la calle y la producción de jabón. Debido a la toxicidad de las hojas y su rápido crecimiento y resistencia, la *Jatropha* se ha empleado frecuentemente como protección o cerca viva, ya que no era afectada por el ganado. Actualmente, la *Jatropha* tiene muchos otros usos (Van der Putten *et al.*, 2009).

## 3.3 NATURALEZA DE LAS SEMILLAS OLEAGINOSAS

Todas las semillas están rodeadas por una cubierta llamada testa (Figura 3.5), la cual puede tener distintas texturas y apariencias. Generalmente es dura y está formada por una capa interna y una externa de cutícula y, una o más capas de tejido grueso que sirve de protección. Estas características le confieren a la testa cierto grado de impermeabilidad al agua y a los gases. Ello le permite ejercer una influencia reguladora sobre el metabolismo y crecimiento de la semilla. Frecuentemente en la testa se puede observar el micrópilo. En muchas ocasiones está asociado con una cicatriz llamada hilio, que marca el punto donde la semilla se separó del tallo (funículo) por medio del cual estaba adherido al fruto. En algunas semillas estas estructuras de la testa están ausentes pero lo que en realidad sucede es que se está observando el pericarpio de un fruto y no la testa, como por ejemplo en el caso de *Helianthus annuus* (el girasol, que pertenece a la familia de las compuestas) y de la lechuga.

El aceite en las oleaginosas se encuentra dentro de la célula vegetal en forma libre o unido a otras macromoléculas como proteínas y carbohidratos (Taha y Hassanein, 2007).

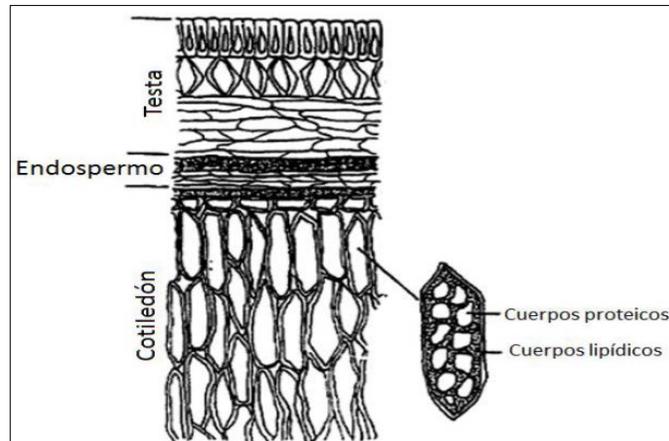


Figura 3.5 Estructura general de una semilla oleaginosa (Borraz, 2012)

La pared celular primaria de una semilla oleaginosa (Figura 3.6) está constituida por fibras de celulosa unidas con hemicelulosa; estas fibras se encuentran ligadas a un dominio secundario compuesto por sustancias pécticas, enlazadas covalentemente a un tercer dominio formado por proteínas (Taha y Hassanein, 2007). Estas interacciones entre los enlaces hacen que el aceite no se encuentre completamente disponible, por lo que es necesaria la aplicación de diferentes tratamientos físicos y químicos sobre la semilla oleaginosa para lograr la extracción y separación del aceite de la compleja matriz. Por la naturaleza compleja de los vegetales, cada semilla oleaginosa posee una pared celular con estructura fisicoquímica diferente de las demás.

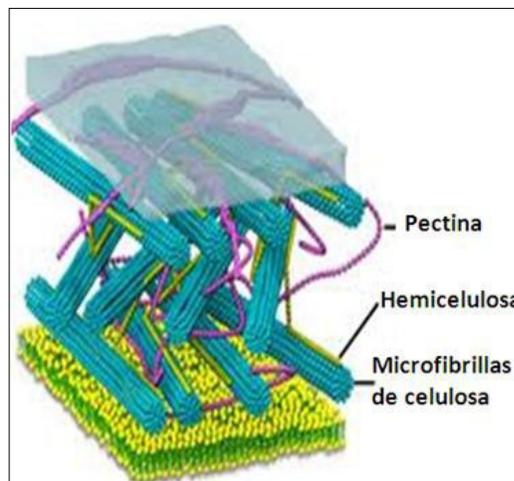


Figura 3.6. Estructura general de la pared celular de una semilla (Borraz, 2012)

La pared que rodea a la célula está compuesta principalmente por celulosa, hemicelulosa y pectina. La celulosa es el constituyente mayoritario de la estructura de la pared celular de las plantas, en general representa entre 30 a 40% del peso seco de la pared primaria y el 40 a 90% de la pared secundaria. La hemicelulosa está constituida de polímeros de pentosas y hexosas (Howard *et al.*, 2003) principalmente de xilosa, manosa, galactosa, glucosa, arabinosa, ácido glucorónico y ácido galacturónico (González *et al.*, 2005), que pueden variar ampliamente de acuerdo al tipo de célula del que provengan; además tienen la capacidad de ligarse a la celulosa mediante puentes de hidrógeno. Las pectinas son heteropolisacáridos estructurales del sistema celular de las plantas, constituyen alrededor del 20-30% del peso seco de la pared primaria. Su componente principal es el ácido poligalacturónico. Las pectinas se encuentran principalmente para aprovechar su capacidad para balancear el equilibrio del agua dentro del sistema (Devia, 2003).

### 3.4 COMPOSICION BROMATOLÓGICA DE LA SEMILLA DE CACATÉ (*Oecopetalum mexicanum*).

#### 3.4.1 Caracterización de la harina

Para caracterizar la materia prima se determinó la composición bromatológica, determinando el contenido de los compuestos que se indican en la tabla 3.3 mediante metodologías de la AOAC (1990) (Guerra y Zúñiga, 2003; Mejía-Giraldo *et al.*, 2007). Los análisis fueron realizados por triplicado.

Tabla 3.3. Análisis bromatológico del cacaté

ANALISIS	REFERENCIA
HUMEDAD	AOAC 925.10
CENIZAS	AOAC 923.03
PROTEINAS.METODO KJELDAHL	AOAC 920.87
GRASAS Y ACEITES.METODO SOXHLET	AOAC 920.39
FIBRA TOTAL.DIGESTION ACIDA Y ALCALINA	AOAC 985.29
CARBOHIDRATOS	POR DIFERENCIA

### 3.4.2 Características Generales

En la tabla 3.4 se presentan los rendimientos equivalentes a las fracciones que conforman la semilla de cacaté, en donde podemos destacar que la fracción mayoritaria corresponde al endospermo, representando el 54.91% del peso total de la semilla, mientras que la masa del exocarpio representa un rendimiento del 45.09% del peso total de la semilla. Por lo que en base al porcentaje, la fracción que es considerada de interés como materia oleaginosa, es la porción mayoritaria de la semilla.

Tabla 3.4. Rendimientos de las fracciones de la semilla de cacaté

FRACCIÓN	PROPORCIÓN(% W/W)
SEMILLA ENTERA	100
ENDOCARPIO	54.91
EXOCARPIO	45.09

### 3.4.3 Composición bromatológica de la semilla de cacaté

La composición bromatológica se presenta en la tabla 3.5. La semilla de cacaté se caracteriza por un contenido de humedad del  $64.70 \pm 0.20\%$ , este valor es relativamente alto comparado al obtenido por cruz (2004) para semillas recolectadas del municipio de Ocozocuahtla (47.26%) y por Ballinas *et al.* (2009) (52.6%) para semillas recolectadas en el municipio de Tapilula, esta diferencia en el contenido de humedad puede deberse a la ubicación geográfica de los cultivos, la temporada de cosecha, las condiciones climáticas, entre otros factores (Belén *et al.*, 2001).

Tabla 3.5. Composición bromatológica de la semilla de cacaté

COMPUESTO	CONTENIDO(g/100g)
CENIZA	$2.30 \pm 0.13$
GRASA	$39.25 \pm 0.33$
PROTEINA	$12.59 \pm 0.10$
FIBRA CRUDA	$4.25 \pm 0.16$
CARBOHIDRATOS	$41.61 \pm 0.16$

Los resultados presentados corresponden a la media  $\pm$  DS (n=3). Datos reportados en base seca

La semilla de cacaté se destacó por su contenido atractivo en grasa, proteína y fibra, con 39.25, 12.59 y 4.25% respectivamente; estos resultados son consistentes con los obtenidos por Ballinas *et al.*, (2009) para semillas recolectadas durante el año 2009, en el municipio de Tapilula, Chiapas reportando un contenido de grasa de 35%, proteína 13.24% y fibra de 4.15%. Centurión *et al.*, (2000) reportaron un contenido de grasa de 30.7 % y proteína de 8.0% de una semilla de cacaté cosechada en el municipio de Tlacotalpa, Tabasco, la variación pudo estar influenciada por las condiciones de extracción del aceite (Solís-Fuentes *et al.*, 2001), la localización geográfica de la zona de recolección (Tecpatán, Chiapas), la época de cosecha (septiembre) y los cambios climáticos (Belén *et al.*, 2001; Matos y Acuña, 2010).

El contenido de proteína del cacaté es comparable con el del amaranto (15%) y superior al promedio reportado para el trigo (10.6%), maíz (11%) y arroz (7.4%) (Belén *et al.*, 2001). El contenido de fibra encontrado para la semilla de cacaté (4.25%) es similar al reportado para el girasol (3.7%) (Badr y Sitohy, 1992) y *moringa oleífera* (4.2%) (Compaoré *et al.*, 2011), pero inferior para el reportado para el ajonjolí (11.2%) y la canola (7%) (Belén- Camacho *et al.*, 2005), aunque el método aplicado no revela la naturaleza de las fibras de la semilla de cacaté, la presencia de fibra dietética es importante dada la relación con la prevención y control de enfermedades cardiovasculares, diabetes y cáncer intestinal (Belén *et al.*, 2001). Por otro lado, el contenido de grasa fue mayor al promedio de los cereales (5%) (Belén *et al.*, 2001). Al comparado con semillas oleaginosas convencionales, este supera al ajonjolí (30%), algodón (22%) y soya (18%) (Belén-Camacho *et al.*, 2005) y es inferior para el reportado para la canola (43%), *moringa oleífera* (43.5%) (Compaore *et al.*, 2011), girasol (45%) (Badr y Sitohy, 1992), por su atractivo contenido de grasa, la semilla de cacaté podría considerarse una fuente importante no convencional para el aprovechamiento del aceite.

El contenido de proteína y de fibra encontrado para la semilla de cacaté permite derivar que el subproducto resultante de la extracción del aceite podría ser útil para la formulación de alimentos destinados ya sea para el consumo humano o para el consumo animal, considerando los efectos benéficos para la salud que conllevan al consumir estos compuestos (Borraz , 2011).

### **3.5 COMPOSICION BROMATOLÓGICA DE LA SEMILLA DE PIÑÓN (*Jatropha curcas* L.)**

Las determinaciones bromatológicas de la semilla de piñón que se utilizaron para la extracción del aceite fueron realizadas en un estudio previo y los valores que aquí se presentan ya fueron reportados por Alfaro (2012).

#### **3.5.1 Determinaciones bromatológicas**

En la Tabla se observa la composición bromatológica correspondiente a la semilla de *Jatropha curcas*, en la cual destaca un alto contenido de fibra cruda del  $40.8745 \pm 0.3365\%$  y de fibra detergente neutra (FDN) de  $22.6716 \pm 0.7843\%$ , esto se debe a que la semilla incluía la testa. El contenido de humedad fue de  $9.8793 \pm 0.1992\%$ , este resultado fue similar al reportado por Martínez (2007), que va de 6.4 a 9,8%. El contenido de cenizas fue de  $5.1799 \pm 0.0165\%$  parecido al reportado por Makkar et al. (1998) de 3,7 a 5,2%.

El contenido de grasa reportado por Makkar et al., (1998) fue de 55-62% y el que se obtuvo en esta determinación fue de  $24.2387 \pm 0.4214\%$ , este porcentaje bajo de grasa pudo deberse a que la semilla incluye la testa y Bailey (1984) sugiere que antes de una molienda es necesario retirar la testa ya que en la extracción con solventes la grasa puede quedar adherida en la cascarilla, obteniéndose bajos rendimientos.

### **3.6 MÉTODOS DE EXTRACCIÓN DE ACEITES**

Se han desarrollado diferentes métodos para llevar a cabo la extracción de aceite a lo largo de la historia, sin embargo la extracción por prensado y con solventes son los métodos básicos y comúnmente empleados (Levente y Bih-King, 2003; Taha y Hassanein, 2007).

Los aceites y las grasas son sustancias de origen vegetal o animal, que consisten predominantemente en mezclas de ésteres de glicerina los ácidos grasos, es decir, triglicéridos. En general, el término grasa se usa para referirse a los materiales sólidos, a temperatura ordinaria; mientras que el término aceite se refiere a los que son líquidos en las mismas condiciones.

La separación de los aceites y grasas a partir de productos oleaginosos animales y vegetales, constituye una rama propia y especializada de la tecnología de las grasas. La diversidad de características de los distintos productos grasos da lugar también a distintos procedimientos de extracción,

tales como la fusión, el prensado y la extracción con solventes, todos estos procedimientos tienden a los mismos fines que son: primero, obtener el aceite sin alteraciones y libre de impurezas; segundo, máximo rendimiento, de acuerdo a la economía del proceso; y tercero, conseguir un residuo o torta de máxima calidad (Bailey, 1984).

### **3.6.1 Pretratamiento mecánico**

#### **3.6.1.1 Preparación de las semillas oleaginosas**

##### **a) Limpieza**

El primer paso en la manipulación de las semillas oleaginosas es su limpieza, para separar los productos extraños. Por medio de cribas planas o tambores rotatorios, se separan las estacas, tallos, hojas y demás desechos, al igual que la tierra y suciedad, las partículas de hierro se eliminan por imanes electromagnéticos, instalados en cintas transportadoras. La limpieza de las semillas se debe llevar a cabo antes de su almacenamiento.

##### **b) Descascarillado y separación de la cascarilla**

Antes de la extracción del aceite, las semillas deben descascarillarse, si es posible. La cascarilla no suele contener aceite; generalmente no tiene más del 1% y sólo las semillas de linaza contienen un 22%. Sin embargo, parece ser que este elevado porcentaje de aceite no procede de la cascarilla, sino del endospermo graso de la semilla, que queda adherido a ella. Si las cascarillas no se separan de las semillas antes de la extracción, el rendimiento en aceite disminuye, por absorción en la torta, aparte de restar capacidad a la instalación.

##### **c) Trituración de las semillas oleaginosas**

La transformación de las semillas oleaginosas en partículas pequeñas facilita la extracción del aceite, ya sea por prensado mecánico o por la acción de solventes.

Existen diversas opiniones acerca de que la trituración de las semillas oleaginosas rompe en realidad grandes cantidades de células oleaginosas, estas opiniones se basan en que cuando las semillas son trituradas se logra un mayor rendimiento de aceite extraído por tratamiento con disolvente, mientras que si la extracción se realiza por prensado se obtiene menores rendimientos de aceite, ya que se ha demostrado recientemente que las semillas más bien rotas que trituradas y con un mínimo de aplastamiento, rinden una gran fracción

de aceite. En cualquier caso (rotas o trituradas) parece ser que muchas células oleaginosas permanecen intactas a pesar de que las semillas sean sometidas a reducción de tamaños en molinos de rodillos que proporcionan los tamaños de partículas más pequeños, además de que las paredes de las células oleaginosas se hacen permeables al aceite sólo por acción del calor y de la humedad, durante la operación de “cocción”. Sin embargo, las paredes de las células reaccionan más rápidamente frente a dichos elementos si el tamaño de partícula es más bien pequeño.

Evidentemente las semillas trituradas o sus partículas convertidas en trozos muy finos, facilitan la extracción con disolvente, tanto por el efecto de ruptura ejercido por la trituración como por la disminución de la distancia que recorre el aceite y el disolvente, dentro y fuera de la semilla. Se ha demostrado que el factor que regula la velocidad de la extracción es, con toda seguridad, la resistencia interna de las partículas, a la difusión molecular del aceite y el disolvente.

En la práctica se debe tener en cuenta otros factores, tales como la resistencia mecánica de las partículas y la que opone la masa de ellas al paso del disolvente. Por el cual, no se suelen triturar las semillas destinadas a la extracción con disolventes, hasta grosor mínimo.

Los molinos de martillos, o de otro tipo, se utilizan, a veces, para la primera reducción de semillas de gran tamaño, mientras que para la desintegración fina se emplean casi siempre los molinos de rodillos por considerarse de mayor economía de operación que los otros tipos (Bailey, 1984).

#### d) Tratamiento térmico de los productos oleaginosos

El tratamiento térmico de los productos oleaginosos se puede dividir en dos categorías, según sea para producir directamente el aceite (fusión seca o, fusión húmeda) o solamente para facilitar la subsiguiente expresión por métodos mecánicos.

El proceso para la extracción directa de aceite se conoce como fusión que se divide en fusión seca y fusión húmeda, el primero consiste en exponer a fuego directo la materia prima, deshidratando los tejidos y permitiendo el escurrimiento del aceite fundido, mientras que en el segundo se expone la materia prima a vapor de agua con una presión de 2,8 a 4,2 Kg por centímetro cuadrado a temperaturas de entre 110 a 130 °C separando el aceite extraído por decantación.

El tratamiento térmico aplicado a las semillas oleaginosas y productos parecidos, el cual se lleva a cabo a temperaturas de entre 105 y 110°C se suele

denominar “cocción” combinándose en algunos procesos las operaciones conocidas como fusión. En cualquiera de estas operaciones, la finalidad es la misma: coagular las proteínas de las paredes de las células oleaginosas y hacerlas permeables al paso del aceite. El paso de éste a través de la materia sólida ayuda también a la disminución de la viscosidad por la temperatura.

Está universalmente comprobado que el prensado mecánico de las semillas oleaginosas permite un mayor rendimiento de aceite, cuando las semillas han sido sometidas previamente a “cocción”, aunque no existe, hasta ahora, una explicación de este fenómeno. Los cambios producidos por la cocción sobre las semillas, son muy complejos y su naturaleza es, tanto química, como físico-química.

Las gotas de aceite de una semilla, son casi de tamaño ultramicroscópico y están distribuidas por toda la semilla. Uno de los efectos de la cocción es favorecer la unión de estas gotas de aceite para formar gotas mayores, que pueden fluir más fácilmente de las semillas. Un factor importante de esta fase de “cocción”, es la desnaturalización de las proteínas y sustancias afines por el calor; antes de la desnaturalización de las proteínas de las semillas, el aceite se encuentra emulsionado, emulsión que rompe su coalescencia, después de la cual, el problema se centra en la separación del aceite, de las sustancias sólidas de la semilla. Como las partículas de éstas presentan una gran superficie, la actividad superficial es un fenómeno que predomina grandemente en el desplazamiento del aceite y está muy influenciado por el tratamiento térmico (Bailey, 1984).

### **3.6.2 Extracción por prensado**

La extracción por prensado es el método más antiguo y simple para extraer el aceite de las semillas oleaginosas. Consiste en un tratamiento mecánico en donde para extraer el aceite del material oleaginoso que lo contiene, tiene que romperse la estructura celular de las semillas oleaginosas, lo cual puede conseguirse aplicando fuerzas de compresión, de modo que las gotas de aceite desgarran y rompen las paredes de las células permitiendo la difusión del aceite al exterior (Trevejo y Maury, 2002). Sin embargo, dependiendo de la complejidad química de la semilla, en ocasiones la ruptura de la estructura celular no es suficiente para lograr una eficiente extracción por lo que una de las desventajas de este método es que cantidades considerables de aceite quedan atrapados en la torta residual, obteniéndose rendimientos bajos en comparación con la extracción por solventes (Taha y Hassanein, 2007). Abdulkarim *et al.* (2005) reportaron que mediante este método tradicional, considerado rudimentario, en general sólo un rendimiento de

aproximadamente de 20 a 40% del total del aceite contenido en la semillas es extraído.

El procedimiento más antiguo y casi único de extracción de aceite se basa en la aplicación de presión sobre una masa de productos oleaginosos confinados en bolsas, telas, mallas u otros.

Los modelos de prensa más primitivos emplean como medios para aplicar la presión, palancas, cuñas, tornillos, etc., mientras que los tipos más modernos utilizan, casi siempre, un sistema hidráulico; por esto el término hidráulico se suele emplear para designar el prensado discontinuo.

Las prensas discontinuas se pueden dividir en dos tipos principales: las “abiertas”, en las cuales el producto oleaginoso debe estar encerrado entre filtros de tela; y las “cerradas”, que prescinden de estos filtros y en las cuales, la materia oleaginosa se introduce en una especie de jaula.

En el prensado continuo se ahorra mucha mano de obra respecto a las hidráulicas y se elimina por completo el uso de telas filtrantes. Se adaptan a una amplia gama de materias y, en la mayor parte de los casos, dan un rendimiento en aceite algo superior a las hidráulicas. Su mayor inconveniente es el gasto de energía, relativamente alto (Bailey, 1984).

### **3.6.3 Extracción con solventes**

La extracción de aceites por solventes es el método de extracción más utilizado por la industria (Kemper, 2005). Generalmente, es un método eficaz y atractivo para diversos tipos de semillas desde aquellas con bajo contenido de aceite, como los cereales y leguminosas con un contenido promedio de 5% de aceite (Caviedes, 1996), y ampliamente utilizados en semillas oleaginosas como el girasol, la canola, el algodón, cacahuete, entre otros (Ward, 1976). El hexano es el solvente comúnmente empleado como disolvente (Abu-Arabi *et al.*, 2000; Taha y Hassanein, 2007). Otros solventes que se han investigado son el tolueno, éter de petróleo, benceno, cloroformo entre otros, sin embargo, el uso de ellos en la industria aceitera está limitado debido a que su manejo implica mayor peligrosidad por ser explosivos, tienen mayor toxicidad y provocan corrosión en las instalaciones. Dependiendo de la naturaleza química de la semilla oleaginosa, este método en ocasiones puede estar asociado con el pre-prensado de la semilla (Guerra y Zúñiga, 2003); sin embargo, los tratamientos mecánicos y con solventes no son suficientes y parte del aceite permanece sin extraer (Latif y Anwar, 2008). La dificultad en la extracción del aceite ha sido atribuido a que las semillas

oleaginosas y en general los vegetales tienen una estructura compleja y rígida debido a la naturaleza de su composición.

En la extracción por solvente, el aceite contenido en la fase sólida se separa por el contacto del disolvente líquido, asociado con el uso de calor. Abdulkarim *et al.*, (2005) reportaron que el rendimiento de extracción con este método es casi un 80%, relativamente mayor al obtenido con el proceso tradicional por prensado, sin embargo, se requiere altos tiempos de residencia, en algunos casos hasta 24 h y se han encontrado fracciones de hexano residual menores al 1% tanto en el aceite extraído como en el residuo de la harina (Sosulski *et al.*, 2000; Abdulkarim *et al.*, 2005). Reverchon y De Marco, (2006) y De Moura *et al.*, (2008) mencionan que se han identificado emisiones de solvente durante la extracción de aceite, siendo esta una fuente importante de contaminación ambiental.

En los últimos años, se han desarrollado técnicas para minimizar las emisiones de compuestos volátiles; sin embargo, la industria aceitera sigue siendo la principal responsable por los altos niveles de estos compuestos volátiles (EPA, 2001). En el 2001, la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos, emitió directrices más estrictas para las emisiones de hexano provocados por la industria aceitera, proporcionando incentivos para desarrollar métodos alternativos de extracción de aceites comestibles (Badr y Sitohy, 1992; Moreau *et al.*, 2004). Por otro lado, se ha identificado que el hexano utilizado como solvente es tóxico ya que exposiciones prolongadas pueden causar problemas respiratorios y neurológicos (Wang *et al.*, 2008), además es inflamable por lo que a pesar de las precauciones existe un grave riesgo de accidentes, es de alto costo energético y la desolventización daña la calidad de la harina residual (Collao *et al.*, 2007).

Entre los procesos alternativos de extracción basados en el uso de disolventes, es importante mencionar el que emplea agua como agente de separación del aceite, proceso al que se le denomina extracción acuosa. Las ventajas del agua sobre cualquier otro disolvente se centra en su nula peligrosidad y no toxicidad, la seguridad operacional y ambiental, menores costos de inversión y operación (Fawzy y Thomas, 2009). Además, las condiciones de operación moderadas favorecen la producción de aceite de alta calidad, por lo que no necesita una posterior refinación (Fawzy y Thomas, 2009). Algunos sustratos oleaginosos sobre los cuales se ha evaluado la efectividad del agua como solvente para la extracción del aceite son la soya (Abu-Arabi *et al.*, 2000) y aguacate (Buenrostro y López, 1986). Johnson y Lucas (1983) mencionan que la principal desventaja son los bajos rendimientos y el riesgo potencial de contaminación microbiana por los tiempos requeridos para su extracción. En los últimos años muchos procesos de alimentos se han modificado, mejorándolos y optimizándolos con el uso de las

enzimas. La eficiencia baja en el proceso acuoso se puede superar mediante la adición de enzimas hidrolíticas al medio acuoso (Fawzy y Thomas, 2009).

### 3.6.4 Extracción acuosa enzimática

La aplicación de enzimas en el proceso de extracción de aceite ha surgido como una propuesta biotecnológica para minimizar las desventajas de los métodos convencionales (extracción con prensado y/o con solventes) (Guerra y Zúñiga, 2003; Taha y Hassanein, 2007). La naturaleza compleja de las semillas implica que estas sean tratadas antes del proceso de extracción o puede implicar un proceso simultáneo que permita solubilizar la pared celular para facilitar la extracción del aceite.

Dentro de las semillas oleaginosas el aceite se encuentra envuelto en los cuerpos lipídicos asociados con proteínas y una amplia variedad de carbohidratos dentro de la célula (Fawzy y Thomas, 2009). Dado que la composición estructural de la pared celular es específica para cada semilla oleaginosa, la selección de un adecuado sistema enzimático es crítico para la extracción eficiente del aceite (Levente y Bih-King, 2003; Taha y Hassanein, 2007).

A pesar del hecho de que un tipo de enzima con actividad catalítica específica, logra una recuperación significativa del aceite extraído, en algunos casos, las mezclas de varias enzimas a menudo es necesaria para degradar una amplia gama de la composición estructural de la matriz celular, como todo el aceite contenido en las semillas no se encuentran en forma libre sino un porcentaje alto está asociado a biomoléculas complejas (Taha y Hassanein, 2007).

El éxito de la extracción de aceite con enzimas se debe a que las enzimas rompen la estructura de la pared celular del cotiledón haciéndola una estructura más permeable (Guerra y Zúñiga, 2003; Zúñiga *et al.*, 2003).

En la extracción acuosa enzimática se utilizan principalmente proteasas y carbohidrasas (Guerra y Zúñiga, 2003; Fawzy y Thomas, 2009). La aplicación de enzimas en los procesos de extracción de semillas oleaginosas en general se combina de manera simultánea con el método de extracción acuosa del aceite, o bien se aplica como un tratamiento previo a la semilla seguido por alguno de los procedimientos de extracción con hexano o prensado (Zúñiga *et al.*, 2003).



### 3.7 ENZIMAS

Las enzimas son proteínas especializadas en la catálisis de las reacciones biológicas. Se encuentran entre las más notables de las biomoléculas conocidas debido a su extraordinaria especificidad y su poder catalítico, que es mucho mayor que los catalizadores inorgánicos. Una de las propiedades más sobresalientes de las enzimas es su especificidad de acción, de tal forma que sólo actúan sobre un sustrato y únicamente tiene lugar un tipo de reacción sin que se produzcan reacciones laterales o subproductos. Aunque las enzimas son proteínas y por lo tanto moléculas relativamente lábiles, desarrollan sus extraordinarios efectos catalíticos en disoluciones acuosas diluidas, en un pH biológico y a temperatura moderada (Lenhinger, 2003).

Las enzimas no sólo intervienen en la síntesis de compuestos biológicos, catalizan también reacciones que abastecen a la célula de energía, detoxifican compuestos, producen luz, etc. Las enzimas son responsables de virtualmente todas las reacciones químicas de la célula, en las cuales se forman o rompen enlaces covalentes. Puesto que son mediadores de las reacciones biológicas, las enzimas entran entre las maquinarias biológicas más sencillas pero más elaboradas y entre las más fáciles de obtener en una forma pura y funcional (Bohinski, 1998).

En 1965 surgió por primera vez un sistema de nomenclatura más sistemático, el cual se revisó en 1972. En este sistema se dividen las enzimas en seis clases principales con base en el tipo general de transformación química que catalizan (Tabla 3.6) (Bohinski, 1998).

Tabla 3.6. Clases de enzimas según la *Internacional Enzyme Commission*

CLASE	TIPO DE REACCIÓN CATALIZADA
Oxidorreductasas	Reacciones de oxidorreducción de todo tipo
Transferasas	Transferencia de un grupo de átomos intacto de una molécula donadora a una receptora
Hidrolasas	Rompimiento hidrolítico (con participación de agua) de enlaces

Liasas	Rompimiento de C-C, C-O, C-N y otros enlaces por medios distintos a la hidrólisis y la oxidación; se incluyen reacciones en las que se elimina agua para dejar enlaces dobles o en las que se agrega agua a dichos enlaces.
Isomerasas	Interconversión de diversos isómeros, por ejemplo cis↔trans, L↔D, aldehido↔cetona.
Ligasas	Formación de enlaces debido a la condensación de dos sustancias diferentes; la energía se toma del ATP

El comercio de enzimas para uso industrial y doméstico asciende a centenares de millones de dólares anualmente en todo el mundo. Las enzimas industrialmente se utilizan en la producción de productos químicos y farmacéuticos cuyo costo es de millones de dólares. Es razonable esperar que los usos industriales de las enzimas aumenten debido a las técnicas modernas de manipulación genética, las cuales hacen que la producción sea más eficiente y menos costosa (Conn, 1996).

Las enzimas se han convertido en herramientas insustituibles para la obtención industrial de productos de índole muy diversa. Enzimas de distinta naturaleza y actividad son utilizadas por muchas industrias de alimentos, químicas o farmacéuticas. Determinadas especies de hongos filamentosos pertenecientes a los géneros *Aspergillus*, *Trichoderma* y *Mucor*, se cuentan entre los principales organismos productores de enzimas industriales, aunque también se obtienen enzimas a partir de bacterias, plantas y animales.

Las carbohidrasas constituyen un grupo muy amplio y variado de enzimas cuya característica común es la capacidad de hidrolizar el enlace glucosídico que forma el eslabón de enlace de los azúcares. Con mayor propiedad bioquímica se denominan glucosil hidrolasas. La extensa investigación bioquímica desarrollada con carbohidrasas ha proporcionado excelentes sistemas modelo para el estudio de problemas relacionados con la estructura tridimensional de las proteínas y su función. Las carbohidrasas generalmente son muy apropiadas para ser empleadas como enzimas modelo en la investigación bioquímica, debido a que su actividad suele ser fácilmente medible y a que son susceptibles de ser estudiadas con una metodología relativamente sencilla (Flores et al., 2004).

### 3.8 INVESTIGACIONES REALIZADAS APLICANDO EL MÉTODO DE EXTRACCIÓN ACUOSO ENZIMÁTICO.

Debido a la alta especificidad y bajas temperaturas de operación, los procesos enzimáticos resultan ser viables para las industrias (Ghodsvali *et al.*, 2009).

Diversos trabajos proponen la aplicación de un tratamiento enzimático en procesos acuosos de semillas vegetales oleaginosas a fin de aumentar la eficacia de recuperación del aceite vegetal mediante la desintegración parcial del material celular. Entre los trabajos citados se encuentra la extracción de aceite de soya, colza, melón y aguacate, en donde la separación del aceite y la torta rica en proteína se logra mediante filtración o centrifugación (Guerra y Zúñiga, 2003).

Ghodsvali *et al.* (2009) investigaron el efecto de una enzima y de un preparado enzimático: la pectinasa producida por *Aspergillus niger* y Pectinex Ultra SP-L, un complejo de actividad pectolítica y hemicelulolítica producido a partir de *Aspergillus aculeatus* proporcionado por Novo Nordisk; sobre la extracción y la calidad del aceite de oliva de tres variedades (Kroneiki, Oleaginosa nativa iraní y Misión). Los tratamientos acuosos enzimáticos, dependiendo de las condiciones evaluadas incrementaron el rendimiento del aceite de oliva en el rango de 0.9 a 2.4% sobre lo obtenido en el tratamiento control, encontrando que al aumentar la concentración de la enzima aumenta considerablemente el rendimiento del aceite extraído. En comparación con el aceite empleado, Pectinex Ultra SP-L y pectinasa (en proporción 0.02%, v/w) no presentaron un efecto estadísticamente significativo ( $p < 0.01$ ) entre los tratamientos; obteniendo un rendimiento de aceite de 72.13 y 71.23% respectivamente.

Kapchie *et al.* (2008) estudiaron el efecto de las enzimas comerciales sobre la hidrólisis de los componentes de la pared celular de la soya, con la finalidad de mejorar la liberación de los oleosomas, comparando los resultados obtenidos con el método convencional de extracción. Los preparados enzimáticos fueron: Multifect pectinasa FE de *Aspergillus niger* con actividad pectinasa, celulasa, hemicelulasa; Multifect CX que es un complejo  $\beta$ -glucanasa de trichoderma reesei y penicillium funiculosum y celulasa A de las especies de aspergillus con actividad celulasa,  $\beta$ -glucanasa, hemicelulasa y xilanasa. Los autores emplearon enzimas en proporciones iguales (1% de cada una para un total de 3% v/w) y encontraron un efecto significativo ( $p < 0.05$ ) en la recuperación del aceite de los oleosomas con un rendimiento de 36.42%, 44.68% y 63.61% homogenizados durante 45, 90, 180 segundos; respectivamente. Comparado con el método convencional, los autores logran recuperar alrededor de 34.28 y 28.65% del aceite de oleosomas procesadas durante 45 y 180 segundos respectivamente. Posteriormente, realizaron tres extracciones acuosas enzimáticas sucesivas a los residuos sólidos

obteniendo un aumento en el rendimiento de aceite de 84.65%. Los autores mencionan que los resultados obtenidos podrían ser útiles para la extracción de aceite de soya a gran escala.

En un estudio realizado por latif y anwar (2008) se compara el resultado el porcentaje de aceite extraído en la semilla de *moringa concanensis*, usando tres enzimas comerciales (Natuzyne, Kenzymex y Feedzyme), con un control extraído de enzimas y con otro control empleando como solvente hexano. El contenido de aceite de las semillas extraídas con enzimas oscilo entre 23.54 a 27.46% siendo este significativamente más alto que el obtenido por el tratamiento control sin enzimas que fue de 15.41%; sin embargo, fue bajo en comparación con el obtenido con el solvente el cual fue de 38.40%. El rendimiento de aceite fue mayor (27.46%) en las semillas tratadas con Kenzymex, mientras que las semillas tratadas con Feedzyme obtuvieron un rendimiento de aceite menor (23.54%). A pesar de los menores rendimientos obtenidos en la extracción, el aceite obtenido a través de la extracción acuosa enzimática presentan mayor estabilidad a la oxidación con respecto al aceite obtenido en la extracción con solvente.

De Moura *et al.* (2008) analizaron dos endoproteasas comerciales: Protex 6L (proteasa bacteriana alcalina derivada de una cepa de *bacillus licheniformis*) y Protex 7L (proteasa bacteriana neutra con actividad endopeptidasa derivada de *bacillus amilo liquefaciens*) sobre el rendimiento del aceite y proteína extraída de las ojuelas de soya durante la extracción acuosa asistida por enzimas, encontrando que Protex 6L fue más efectivo que Protex 7L con rendimientos de extracción de aceite y de proteína de 96 y 85%, respectivamente, ambas analizadas a una concentración enzimática de 0.5%.

Taha y Hassanein (2007) estudiaron el efecto del pretratamiento con enzimas sobre la extracción del aceite de las hojuelas de la semilla de algodón. Los preparados enzimáticos que investigaron fueron proteasa bacteriana, papaína, savinasa, termamil, pectinasa y celulasa. Las variables estudiadas durante los experimentos de hidrólisis enzimática fueron concentración de enzima (1, 2 y 3%, v/v), relación sólido:líquido (5.5:1, 7:1 y 10.5:1 w/w) y el tiempo de hidrólisis (3 y 6 h). Los autores evaluaron el efecto individual y combinado de los preparados enzimáticos, comparando los resultados frente a un tratamiento control, el cual consistió en la extracción del aceite por soxhlet, ellos encontraron que todos los tratamientos tratados con los preparados enzimáticos incrementaron el porcentaje de aceite extraído con respecto al tratamiento control. El porcentaje de aceite extraído que obtuvieron aplicando los diferentes tratamientos enzimáticos (a una concentración enzimática de 3%) fue proteasa bacteriana 25.9%, papaína 25.0%, savinasa 23.9%, termamil 23.94% y para el tratamiento control fue de 20.5%, esto puede estar relacionado con que las proteasas actúan sobre las moléculas de las

lipoproteínas degradándolas a moléculas simple, liberando el aceite extra. en el caso del efecto combinado, los autores encuentran un incremento en el rendimiento de la extracción de aceite al emplear en combinación los preparados enzimáticos frente a los preparados enzimáticos que se emplearon solos. El análisis estadístico mostro diferencias significativas ( $p < 0.05\%$ ) entre el control y las distintas mezclas de los preparados enzimáticos. El porcentaje de aceite extraído con la combinación de las enzimas fue: savinasa-pectinasa-proteasa bacteriana 44.9%, savinasa-pectinasa 39.7%, savinasa celulosa-pectinasa 38.9%, savinasa-proteasa bacteriana 37.1%, savinasa-termamil 34.9%, savinasa-celulosa 30.1% y sabinas-papaína 28.9%. Estos resultados indican que es necesaria la combinación de las actividades enzimáticas de los preparados, debido a que la pared celular de las semillas oleaginosas está compuesta por celulosa, hemicelulosa, pectina, lignina y proteínas, por lo que, en el tratamiento de las células de la semillas oleaginosas con el consorcio de varias de las enzimas especificas son necesarias para hidrolizar estos compuestos para liberar mas aceite.

En 2006, Grasso *et al.* Investigaron el efecto del pre-tratamiento enzimático de hojuelas de soya sobre el rendimiento del aceite extraído. Para determinar las condiciones optimas que permitan un máximo rendimiento del aceite aplicaron una metodología de superficie de respuesta, las variables evaluadas fueron PH, temperatura y tiempo de hidrolisis enzimática cada una de ellas evaluadas a tres niveles. Los resultados mostraron un máximo rendimiento de 26.64% del aceite extraído en base seca bajo las condiciones optimas de temperatura 43°C, PH 5.4 y tiempo de incubación de 5.8 horas.

Un estudio realizado por Sant'Anna *et al.* (2003) permitió la selección de las enzimas hidrolíticas así como de los parámetros de extracción que proporcionen el mejor rendimiento de extracción de aceite de coco en un proceso acuoso. Las enzimas hidrolíticas empleadas fueron Celluclast 1.5L, Termamyl 120L, Viscozyme L, Neutrassa 1.5MG, Pectinex 3XL y Alcalase. Los resultados indicaron que la combinación entre Viscozyme L y Neutrassa 1.5MG incrementan el porcentaje de aceite alrededor de un 60 % con respecto al tratamiento control, empleando concentraciones de Viscozyme L y Neutrassa 1.5MG de 0.6% (w/w) y 0.3% (w/w), respectivamente, con un tiempo de incubación de 30 minutos, una relación sustrato: agua de 1.6 y utilizando el PH de la muestra (alrededor de 7, sin ajustar). En base a estos resultados, los autores concluyen que el método de extracción acuoso asistido por enzimas ha demostrado ser una técnica eficaz para obtener un mayor rendimiento de aceite.

Taha *et al.* (2002) Llevaron a cabo un pretratamiento enzimático en el proceso de extracción de aceite de 3 las hojuelas de algodón comparando el uso de enzimas

crudas (celulasa, hemicelulasa y pectinasa) frente al uso de mezcla de enzimas, resultando que cuando se trabajan en forma individual las enzimas, los niveles de rendimiento de aceite aumentan en comparación con las semillas de algodón sin tratar; sin embargo, el rendimiento del aceite extraído aumento con la mezcla de enzima.

Los procesos industriales para la extracción de aceite comestible a partir de semillas oleaginosas generalmente implican una etapa de extracción de disolvente que puede o no puede estar precedida por prensado. En el pasado, la principal preocupación de este proceso ha sido las implicaciones de seguridad. Esto provocó intentos para desarrollar procesos basados en el uso de medios de extracción acuosas que no tuvieron éxito debido principalmente a rendimientos bajos de aceite. El escenario en la actualidad parece estar cambiando. El interés en los procesos de extracción acuosa ha sido revivido por la creciente preocupación medioambiental. Un proceso acuoso es visto como una tecnología alternativa ambientalmente más limpia para la extracción de aceite (Rosenthal, 1999).

Se han realizado diversas investigaciones donde se aplican tratamientos enzimáticos en procesos acuosos con el objetivo de mejorar el rendimiento de extracción de aceites de semillas oleaginosas. En 1995 Dominguez et al., realizaron una investigación sobre el proceso acuoso de soja con tecnología enzimática para la extracción de aceite y producción de aislados de proteínas, donde la degradación de la estructura de la pared vegetal, causada por el ataque enzimático, aumentó la extractibilidad del aceite en un 10%, respecto al aceite total extraíble además de que la enzima empleada es reutilizable en etapas posteriores, lo que supone un ahorro económico en el proceso. Por otra parte, Schwartz *et al.* (2007), estudiaron el mejoramiento del rendimiento de la extracción de aceite de aguacate con dos preparados enzimáticos: Pectinex Ultra SL-P y Olivex, así como la mezcla de ellos, obteniendo rendimientos de 80% con el preparado enzimático Pectinex Ultra SL-P, 71% con el preparado enzimático Olivex y 82% con la mezcla de los preparados enzimáticos.

Sandoval-Aldana *et al.* (2009), estudiaron el rendimiento en la extracción del aceite de frutos de aguacate cv Has, utilizando dos preparados enzimáticos: Maxolive y Rapidase con los que obtuvieron rendimientos de 48,36% y 48,25% respectivamente, concluyendo que sin el tratamiento previo con enzimas no es posible la extracción de aceite utilizando prensa hidráulica, ya que las actividades pectolítica y hemicelulolítica de las enzimas permiten la degradación de la pared celular y de esta forma se logra la extracción del aceite.

El uso de algunos preparados celulolíticos en el proceso de extracción ha tenido un efecto positivo sobre el rendimiento de la extractibilidad del aceite, la degradación enzimática de los polisacáridos de la pared celular de los vegetales juega un papel importante en la extracción de los compuestos presentes en vegetales y frutas, porque los preparados enzimáticos incrementan la formación de poros, el tamaño de poro y la porosidad total del sustrato, lo que permite mayor y rápida recuperación de los compuestos extraídos (Ovando-Chacón y Waliszewski, 2005).

Analizando las consideraciones anteriores particularmente el alto contenido graso de las semillas de cacaté, las fracciones que conforman la fibra del fruto, los escasos estudios sobre la extracción de aceite y su composición, en este trabajo de investigación se propone evaluar las relaciones adecuadas en las cuales se obtienen mejor rendimiento de aceite y optimizarlas ya que por los reportes disponibles, el cacaté podría ser una excelente alternativa no convencional de semillas oleaginosa para la obtención de aceite comestible y en su caso el piñón es una nueva fuente energética que actualmente ya se emplean y también se pretende optimizar la relación adecuada para su mejor rendimiento.

## Capítulo 4.- MATERIALES Y MÉTODOS

### 4.1 MATERIA PRIMA

#### 4.1.1 Cacaté (*Oecopetalum mexicanum*)

Las semillas de cacaté (*Oecopetalum Mexicanum*) fueron recolectados en el municipio de Tecpatán, Chiapas; correspondiente a la primer cosecha del mes de septiembre del 2010 aproximadamente a los 8 años de floración. Se empleó un lote de 30 kg de semilla de cacaté, seleccionando visualmente aquellos que no presentaran daños físicos aparentes (Sant'Anna *et al.* 2003). Las semillas fueron colocadas en bolsas negras de polietileno y almacenadas a 4°C en el congelador marca Torrey, hasta el momento de su uso.

Para la molienda se utilizó 4kg de semillas, que fueron descongeladas a temperatura ambiente durante 6 horas; posteriormente fueron sometidas a un descascarado manual, eliminando la testa y recuperando el endospermo. Una vez obtenida la fracción de interés, los endospermos fueron molidos en un molino de discos marca Engineering industrial. Posteriormente se separo por tamaños en un tamiz vibratorio marca Luheng instrument Co, obteniéndose una harina de granulometría variada. Se almacenó hasta su uso en frascos ámbar de 1 litro de capacidad en el congelador marca torrey a 4°C (Guerra y Zúñiga, 2003; Belén-Camacho *et al.*, 2005)

La semilla de cacaté que fue utilizada para este proyecto ya estaba molida y almacenada en refrigeración para el momento de su uso.

#### 4.1.2 Localización geográfica del cultivo de cacaté

Tecpatán es una localidad del estado de Chiapas, sus coordenadas geográficas son 17°08'10"N y 93°18'40"O, a una altitud de 320 msnm. El clima de este municipio es cálido húmedo. Limita al norte con el estado de Tabasco y el municipio de Ostuacan, al este con los municipios Francisco león, Copainala y Ocoatepec; al sur, con los municipios de Berriozábal, Ocozocuaula y Cintalapa y al oeste con el estado de Veracruz (INEGI, 2005).

#### 4.1.3 Piñón (*Jatropha curcas* L.)

Las semillas de *Jatropha curcas* fueron seleccionadas por inspección (Anexo, Figura 8.3) eliminando las que presentaban daño físico aparente, las semillas seleccionadas fueron colocadas en bolsas negras de polietileno y almacenadas a 4°C en un congelador marca Torrey hasta el momento de su uso.

Se descongeló 2,0 Kg de semillas de *Jatropha curcas* a temperatura ambiente durante 12 horas en una campana de extracción.

Las semillas de *Jatropha curcas* con endospermo y testa fueron molidas en un molino de discos marca Engineering Industrial. Posteriormente se separó por tamaños a través de una serie de tamices marca Mont-Inox con número progresivo 6, 8, 10, 16, 20, 30 y 50 utilizando una tamizadora marca Luheng Instrument Co durante 20 minutos con una carga de 100 g, obteniéndose una harina granulométricamente variada y se calculó el rendimiento de molienda. Se almacenó hasta su uso en frascos ámbar de 1 L de capacidad en el congelador marca Torrey a 4 °C.

De igual manera como el cacaté el piñón ya se encontraba molido y almacenado en refrigeración hasta el momento en que se le dio el uso.

#### 4.1.4 Localización geográfica del piñón

Se utilizó un lote de 3,7 Kg de semillas de *Jatropha curcas* que fueron recolectadas en el municipio de Chiapa de Corzo (Anexo, Figura 8.4) ubicado entre los paralelos 16°17' y 16°55' de latitud norte; los meridianos 92°48' y 93°06' de longitud oeste; altitud entre 200 y 1 800 m, colinda al norte con los municipios de Osumacinta, Soyaló e Ixtapa; al este con los municipios de Ixtapa, Zinacantán, Acala, y Venustiano Carranza; al sur con los municipios de Venustiano Carranza y Villa Corzo; al oeste con los municipios de Villa Corzo, Villaflores, Suchiapa, Tuxtla Gutiérrez y Osumacinta (INEGI, 2005).

## 4.2 METODOLOGÍA PARA LA EXTRACCIÓN ACUOSA ENZIMÁTICA DEL ACEITE DE CACATÉ Y PIÑÓN.

En la figura 4.1 se muestra el diagrama de flujo del procedimiento empleado para la extracción de los aceites de cacaté y de piñón.

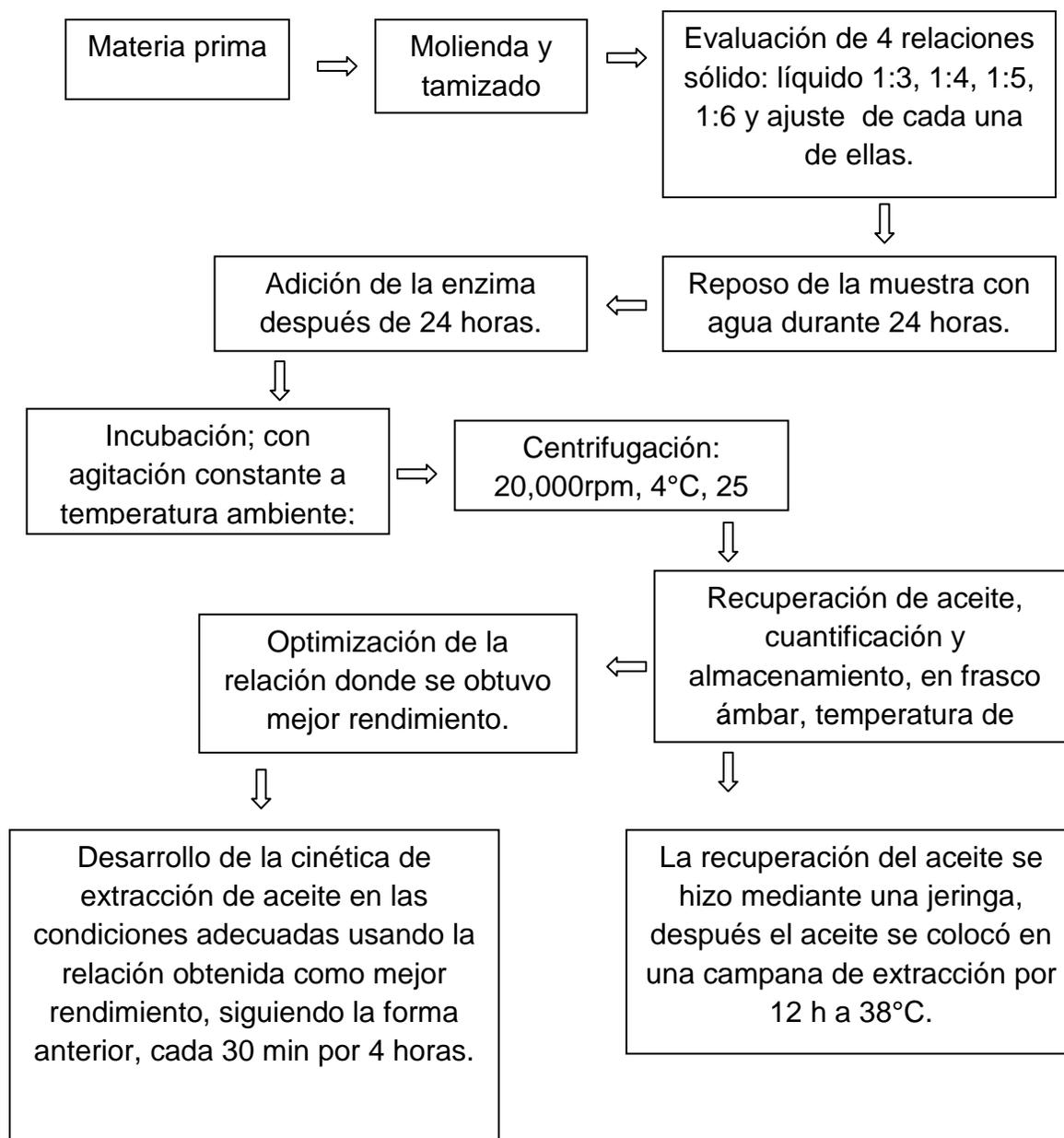


Figura 4.1 Metodología para la extracción acuosa enzimática de aceite de piñón y cacaté

### 4.3 ENZIMA

El preparado enzimático que fue usado para el ensayo fue Viscozyme L. La especificación de este preparado se menciona en la tabla 4.2.

Tabla 4.2 especificaciones de los preparados enzimáticos comerciales

Preparado enzimático	Actividad	fuentes	Temperatura óptima
Viscozyme L	Hemicelulasa, celulasa	<i>Aspergillus sp</i>	40-45 °C

### 4.4 EXTRACCIÓN ACUOSA ENZIMÁTICA

Para cada relación S: L que serviría para optimizar el mejor rendimiento se pesaron 5g de harina de *Jatropha Curcas* L de la misma manera que la harina de *Oecopetalum mexicanum*, cada relación se realizó por triplicado, siguiendo la relación se hidrató con agua destilada respectivamente dejándolo en refrigeración por 24 horas, una vez hidratado se adiciona el preparado enzimático a una concentración de 2%. En cada lote se utilizó el mismo preparado enzimático, a temperatura ambiente con una velocidad de agitación de 200 rpm por un periodo de 4 h en una agitadora marca New Brunswick Scientific (Anexo, Figura 8.5). Transcurrido el tiempo de hidrólisis cada matraz fue sometido a un baño de agua con calentamiento a 100°C durante 5 min, seguido de un baño frío por 5 min para inactivar la enzima. A continuación, el contenido de cada matraz fue trasladado a tubos Falcón de 50 mL, los cuales fueron centrifugados a 20,000 rpm durante 25 min a una temperatura de 4°C en una centrifuga marca Eppendorf (Anexo, Figura 8.6). También se incluyó un tratamiento testigo, el cual se sometió al mismo tratamiento descrito sólo que no contenía la enzima. A continuación se implementó la técnica para la separación de la fracción de aceite extraído y la cuantificación para la optimización de las condiciones adecuadas, usando las relaciones de mayor rendimiento para el desarrollo experimental de la cinética.

Para la cinética se realizó el mismo procedimiento, por triplicado, cada 30 min, durante 4h, tomando el primer tratamiento en el tiempo 0, y cada 30 min respectivamente. Los tratamientos fueron enumerados de la siguiente manera para cada cinética 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7,8 por triplicado.

## 4.5 DISEÑO ESTADÍSTICO

### 4.5.1 Identificación y exposición del problema

La hidrólisis enzimática de *Jatropha curcas* L y *Oecopetalum mexicanum* se realizó por triplicado, en la primera etapa se realizó la prueba de 4 relaciones S:L en la cual se obtuvo el mejor rendimiento para optimizar las condiciones, en la segunda etapa se desarrollo la cinética de extracción en las condiciones adecuadas del proceso cada 30 min durante 4h.

Se realizó tres replicas o repeticiones de cada prueba y se uso una enzima en el ensayo experimental.

Variables:

Variable independiente es definida como la enzima.

Variable dependiente es el rendimiento de aceite con la enzima utilizada.

### 4.5.2 Etapa 1

#### Selección de la variable de respuesta

Está definida por el resultado del rendimiento en volumen del aceite de cada matraz para optimizar la relación S: L donde se obtiene mejor rendimiento.

El diseño consistió en evaluar cuatro relaciones S: L, cada una por triplicado, la cual sumaron 12 unidades experimentales, todas las relaciones evaluadas fueron sometidas a las mismas condiciones de temperatura ambiente, y 200 rpm durante 4 h. El diseño presentado en la tabla 4.2 fue usado para el piñón y para el cacaté.

Tabla 4.3 Matraz y relación correspondiente, diseño experimental

Matraz	Relación
1	1:3
2	1:3
3	1:3
4	1:4
5	1:4
6	1:4
7	1:5
8	1:5
9	1:5

10	1:6
11	1:6
12	1:6

#### 4.5.3 Etapa 2

#### Selección de la variable de respuesta

En la segunda etapa ya están optimizadas las condiciones adecuadas para la cinética cada 30 min durante 4h, procedimiento que también se realiza por triplicado. Esta etapa obtiene como resultado el rendimiento en volumen y porcentaje del aceite con la hidrólisis enzimática donde se evalúa en que tiempo se obtiene el mejor rendimiento (Tabla 4.4).

Tabla 4.4 Diseño para la cinética de la hidrólisis enzimática

Matraz	tiempo
1	0
2	30 min
3	60 min
4	90 min
5	120 min
6	150 min
7	180 min
8	210 min
9	240 min

El mismo diseño se utilizó para el piñón y para el cacaté.

#### 4.6 RECUPERACIÓN DEL ACEITE

La fracción de aceite se recuperó extrayendo con una jeringa y se almacenó en tubos Ependorf de 20 ml a 4°C. La fase acuosa y sólida fue almacenada en tubos Falcon bajo las mismas condiciones que el aceite. El rendimiento de aceite se calculó con la siguiente fórmula:

$$\text{Rendimiento}(\%) = \left( \frac{\text{Aceite}_{Tr}}{\text{Aceite}_{Tt}} \right) \times 100$$

Donde:

Rendimiento (%): es el rendimiento de aceite de la extracción acuosa enzimática,

Aceite<sub>Tr</sub>: es la cantidad de aceite en gramos que se recuperó de la hidrólisis de la harina de *Jatropha curcas* L. Y *oecopetalum mexicanum*.

Aceite<sub>Tt</sub>: es la cantidad de aceite que se recuperó del testigo.

## CAPITULO 5.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 5.1 RECUPERACIÓN DEL ACEITE DESPUÉS DE LA HIDROLISIS ENZIMÁTICA

En la tablas 5.1, se observa la relación S: L y los resultados de los volúmenes de aceite obtenido en la hidrolisis enzimática de la etapa 1, siendo la relación 1:6 para el caso del piñón el que permite mayor rendimiento en la extracción de aceite, mientras podemos observar que en la relación 1:3 es donde se obtuvo un menor rendimiento (Figura 5.1). De los resultados de los volúmenes obtenidos en la prueba de relación S: L para el cacaté (Tabla 5.2) podemos observar que es en la relación 1:5 donde se obtuvo el mayor volumen de aceite extraído, mientras que en la relación 1:3 es la que se observa un menor volumen (Figura 5.2). Los resultados obtenidos son aproximados debido a la técnica de recuperación de aceite que se empleó.

Tabla 5.1 Influencia de la relación sólido: líquido sobre el volumen de aceite extraído empleando el piñón

Influencia de la relación S:L de la etapa 1 para el piñón			
Relación	Volumen de aceite en mL por cada 15g	Promedio	% por cada 15g
1:3	5.86	1.95±0.085	39.09
1:4	3.80	1.27±0.089	25.34
1:5	6.84	2.28±0.15	45.58
1:6	6.86	2.29±0.60	45.73

En la tabla 5.1 se observa los volúmenes de aceite obtenidos para cada relación, donde de acuerdo con los resultados, podríamos decir que la relación 1:6 podría ser considerada como la condición adecuada para hidrolisis acuosa enzimática de la semilla de piñón por ser la relación S: L donde mayor volumen de aceite fue extraído.

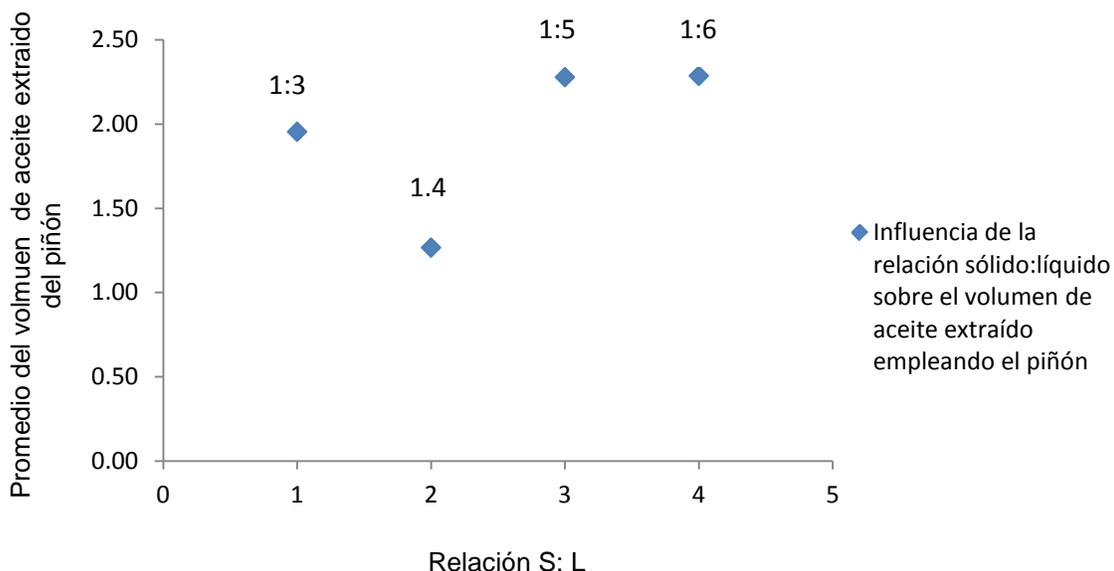


Figura 5.1 Influencia de la relación sólido: líquido sobre el volumen de aceite extraído empleando el piñón

En la figura 5.1 podemos observar para el caso del piñón la influencia de la relación S: L sobre el volumen de aceite extraído, de acuerdo con el comportamiento de la gráfica es en la relación 1:6 donde nos permite obtener mayor volumen de aceite, es en la relación 1:4 donde se obtuvo menos cantidad de aceite promedio. Esto podría suponer que para el caso de piñón no se le atribuya a que en suspensiones muy diluidas, la posibilidad de la interacción enzima-sustrato es baja (Li *et al.*, 2001), al contrario para la extracción de aceite de piñón, podría decirse que las suspensiones muy diluidas pueden favorecer el resultado del aceite obtenido. La desventaja sobre las suspensiones muy diluidas para el caso del piñón en este trabajo fue la separación del aceite, esto pudo deberse a que en suspensiones muy diluidas se favorece la formación de una emulsión estable lo que dificulta mantener el aceite en suspensión (De Moura *et al.*, 2008).

Tabla 5.2 Influencia de la relación sólido: líquido sobre el volumen de aceite extraído empleando el cacaté

Influencia de la relación S:L de la etapa 1 para el cacaté			
Relación	Volumen total de aceite cada 15g	Promedio	% de cada 15g
1:3	0.9	0.3±0.01	6
1:4	2.4	0.8±0.1	16
1:5	8.3	2.77±0.15	55.3
1:6	7.8	2.6±0.2	52

En la tabla 5.2 se observan los resultados de la prueba de relación para el cacaté de la etapa 1, de acuerdo con los resultados obtenidos, es en la relación 1:5 donde se obtuvo mayor volumen de aceite después de la hidrólisis enzimática, por lo contrario en la relación 1:3 es donde se observa menor volumen de aceite. Podemos decir que la relación 1:5 podría ser considerada como la condición óptima para la hidrólisis acuosa enzimática de la semilla de cacaté.

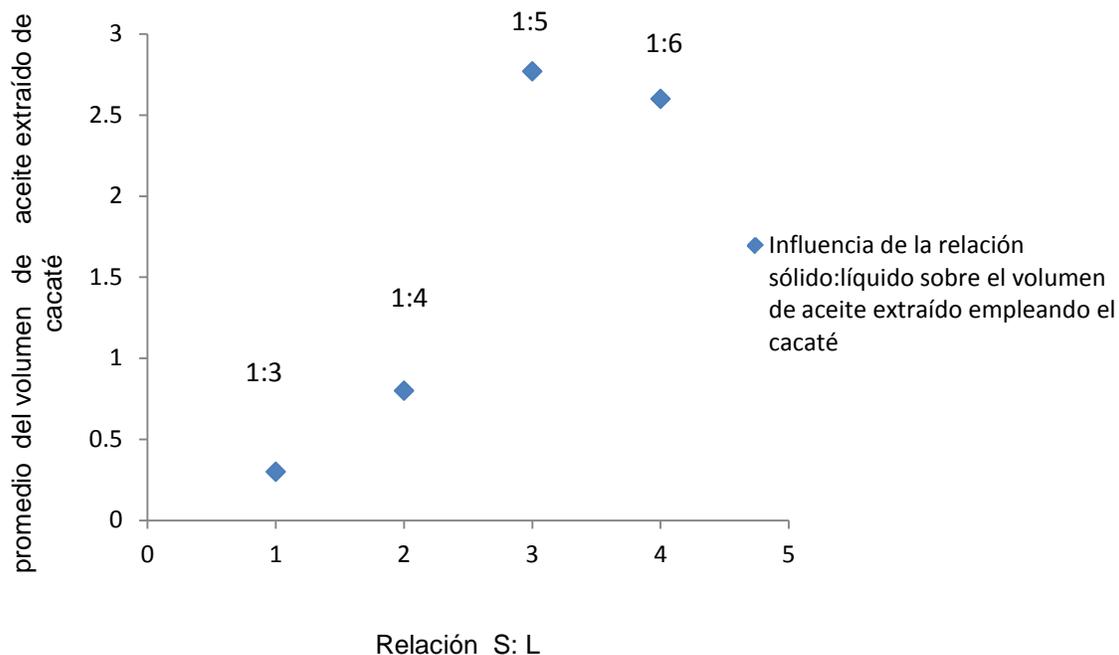


Figura 5.2 Influencia de la relación sólido: líquido sobre el volumen de aceite extraído empleando el cacaté

En la figura 5.2 se observa a detalle de acuerdo con el comportamiento de la grafica, la relación 1:5 con el mayor promedio de aceite extraído de la hidrolisis enzimática de la harina de cacaté, de igual manera la relación 1:3, que fue de menor promedio. Resultados similares han sido reportados por Moura y Johnson (2009) encontrando el máximo rendimiento en una relación 1:5. Picuric-Jovanovic *et al.*, (1997) mencionan que una adecuada relacion sólido: líquido permitirá el acceso de la enzima a la pared celular de la semilla oleaginosa ya que permite la difución de la enzima hacia su sustrato.

En las tabla 5.3 y 5.4, se observa los resultados promedios de volúmenes de aceite obtenidos en la cinética de hidrolisis enzimática de las semillas de piñón y cacaté de la etapa 2, siendo el tratamiento número 8 en ambos casos, piñón y cacaté, que mostro un mayor volumen de aceite como resultado en comparación con los tratamientos que fueron de menos tiempo, considerando el tratamiento patrón el del tiempo 0 que no contenía la enzima, los datos son aproximados debido a la técnica de recuperación del aceite.

Tabla 5.3 (etapa 2), resultado promedio de las tres repeticiones de hidrolisis enzimática de piñón

Cinética, etapa 2, resultados de las tres repeticiones de hidrolisis enzimática de piñón			
	Volumen promedio en mL de cada 20 g de muestra		
Total de tratamiento	1	2	3
9	3.2±0.085	3.1±0.06	2.94±0.073

Tabla 5.4 (etapa 2), resultado promedio de las tres repeticiones de hidrolisis enzimática de cacaté

Cinética, etapa 2, resultados de las tres repeticiones de hidrolisis enzimática de cacaté			
	Frecuencia; volumen en mL de cada 20 g de muestra		
Tratamiento cada 30 min	1	2	3
9	1.62±0.09	1.44±0.08	1.41±0.08

## 5.2 RENDIMIENTO DEL ACEITE

En la tabla 5.5 y 5.6 se observa el rendimiento promedio del aceite resultado de la cinética de hidrólisis enzimática de piñón y cacaté, tomando las replicas de la cinética como eje X, y el rendimiento en % que está en el eje Y de la gráfica (figura 5.3 y 5.4).

Tabla 5.5 (etapa 2), resultado promedio del rendimiento de las tres repeticiones de hidrólisis enzimática de piñón

Numero de tratamientos	Rendimiento en % promedio de aceite de cada 20 g de muestra de harina de piñón de las tres repeticiones		
9	8.81±0.23	15.5±0.30	29.4±0.73

La tabla 5.5 muestra los resultados de los rendimientos promedios en % de las tres repeticiones, considerando que los resultados son de 9 tratamientos cada 30 min durante 4 h, los resultados se obtuvieron considerando el tratamiento 0 que no contenía la enzima como tratamiento patrón. Las tres repeticiones se realizaron en las mismas condiciones y los resultados promedios muestran valores muy diferentes, eso pudo deberse a que la materia prima que se usó en la primera repetición a las últimas dos fueron las que se prepararon al momento debido a que la harina de piñón que ya estaba preparada se agotó.

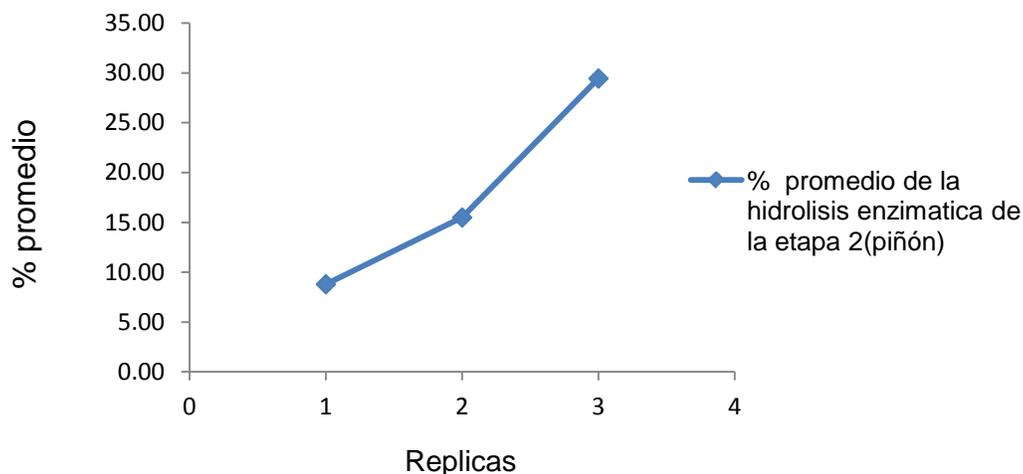


Figura 5.3 Grafica del rendimiento promedio de aceite de harina de piñón después de la hidrolisis enzimática

La gráfica (figura 5.3) muestra como el resultado promedio es mucho más elevada en la réplica tres, los factores que influyeron en el resultado ya fue planteado con anterioridad, las tres repeticiones fueron realizadas en las mismas condiciones de temperatura ambiente, 200 rpm y los valores que se muestran son los resultado de 9 tratamientos por cada repetición.

Tabla 5.6 (etapa 2), resultado promedio del rendimiento de las tres repeticiones de hidrolisis enzimática de cacaté

Numero de tratamientos	Rendimiento en % promedio de aceite de cada 20 g de muestra de harina de cacaté de las tres repeticiones		
9	5.41±0.3	14.4±0.8	14.11±0.8

En la tabla 5.6 se pueden observar los rendimientos promedios de aceite de harina de cacaté, los resultados son el % promedio de tres replicas, los cuales consistieron en evaluar 9 tratamientos cada 30 min hasta completar la cinética de 4 h, cada tratamiento fue sometido a las mismas condiciones de temperatura ambiente y 200 rpm, usando una concentración de enzima de 2%(1μl) en cada tratamiento. Los resultados son aproximados debido a la técnica de recuperación del aceite.

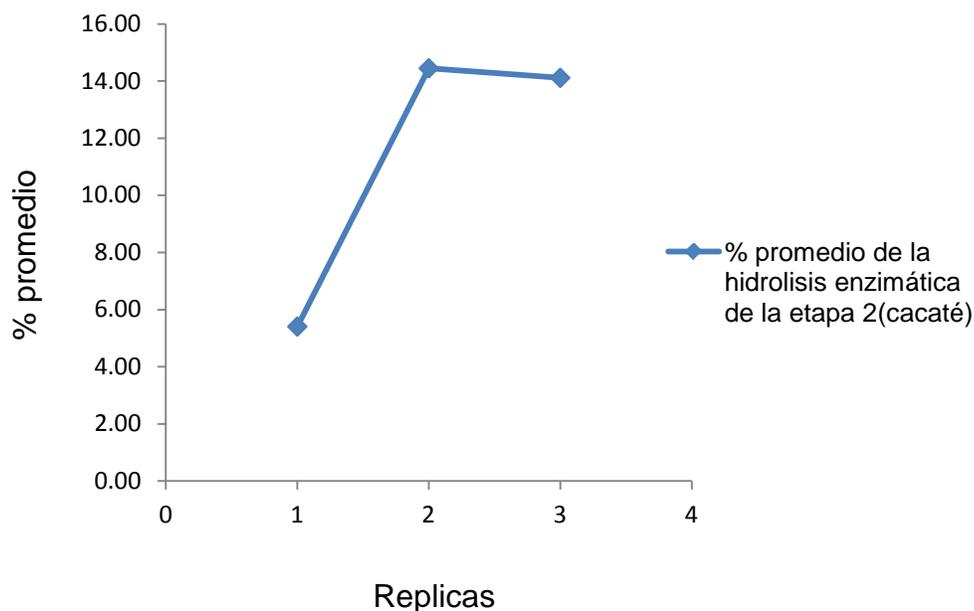


Figura 5.4 Grafica del rendimiento promedio de aceite de harina de cacaté de después de la hidrolisis enzimática

En la gráfica (figura 5.3) se muestra los rendimientos de aceite promedio de tres replicas. Cada replica fue evaluada mediante 9 tratamientos cada 30 min durante 4h, los resultados que se ilustran se obtuvieron tomando en cuenta el tratamiento 0 que no contenía la enzima como tratamiento patrón.

Como en los estudios realizados por Schwart *et al.*, (2007) y Ovando-Chacón y Waliszewski, (2005), se observa que al someter a la materia prima a un tratamiento previo con enzimas se mejora en rendimiento de aceite, independientemente de que se someta a la materia prima a otro método de extracción como el prensado o extracción con solventes para obtener rendimientos mayores. Todos los resultados obtenidos de la etapa 2 donde se realizó la hidrolisis enzimática pertenecen a 20 g de muestra por cada tratamiento.

## Capítulo 6.- CONCLUSIÓN

El proceso acuoso enzimático para la prueba de relación mejoró en las semillas de *Jatropha curcas* L en la relación 1:6 y para las semillas de *Oecopetalum mexicanum* en la relación 1:5, para el caso del cacaté los resultados fueron similares comparando con los de la bibliografía, para ambas semillas y en comparación con las otras relaciones donde se obtuvo menor porcentaje de aceite puede decirse que las relaciones con mejor resultado son consideradas las mejores condiciones para la extracción de aceite mediante hidrólisis enzimática.

El diseño estadístico usado para realizar la hidrólisis enzimática de *Jatropha curcas* L y *Oecopetalum mexicanum* nos dan valores aproximados del volumen promedio y porcentaje de aceite promedio debido a la técnica de recuperación del aceite practicado, según los análisis estadísticos que implican los resultados promedios de las dos semillas mostraron que se obtiene mejor resultado al dejar por más tiempo la enzima, los rendimientos promedios fueron significativos esto de acuerdo con el comportamiento de las gráficas.

## Capítulo 7.- REFERENCIAS

Abdulkarim S.M., Long K., Lai O.M., Muhammad S.K.S., Ghazali H.M 2005. Some physico-chemical properties of Moringa oleifera seed oil extracted using solvent and aqueous enzymatic methods. Food Chemistry. 93:253-263.

Abu-Arabi M.K., Allawzi M.A., Al-Zoubi H.S., Tamimi, A. 2000. Extraction of jojoba oil by pressing and leaching. Chemical Engineering Journal. 76:61-65.

Anwar F., Latif S., Przybylski R., Sultana B., Ashraf M. 2007. Chemical composition and antioxidant activity of seeds of different cultivars of mungbean (*Vigna radiata*). Journal of Food Science. 72(7):503-510

Badr F.H., Sitohy M.Z. 1992. Optimizing conditions for enzymatic extraction of sunflower oil. Grasas y aceites. 43(5):281-283

Bailey, E.A. 1984. Industrial oil and fat products, Segunda edición. España. Editorial reverté, S.A. p. 398-473.

Ballinas E.J., Selvas M.A., García A., Aguilar O.A., Caballero A. 2009. Valor nutricional del aceite de cacahuate *Ocotepealum mexicanum*. Datos no publicados. Tesis de Licenciatura de Nutrición. UNICACH. p. 15-17,30-34.

Belén C.D.R., Álvarez F.J., Alemán R. 2001. Caracterización fisicoquímica de una harina obtenida del mesocarpio del fruto de la pala coroba (*Jessenia polycarpa karst*). Revista de la facultad de agronomía. 18:290-297.

Belén-Camacho D.R., López I., García D., González M., Moreno-Álvarez M.J., Medina C. 2005. Evaluación fisicoquímica de la semilla y del aceite de corozo (*Acrocomia aculeata Jacq*). Grasas y Aceites. 56(4):311-316.



Borraz, D.A. 2012. Extracción acuosa enzimática del aceite de las semillas de cacaté (*Oecopetalum mexicanum*). Tesis de Maestría en Ciencias en Ingeniería Bioquímica. Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez. p.11.

Bohinski, R.C. 1998. Bioquímica. Quinta edición. México. Editorial Pearson. p.175-176.

Buenrostro M., Lopez A. 1986. Enzymatic extraction of avocado oil. *Biotechnology Letters*. 8(7):505-506.

Caviedes J. 1996. Aqueous processing of rapeseed (canola). Master Thesis. Department of chemical Engineering and Applied chemistry, University of Toronto. Canada. P.20-31

Chávez Q.E., Roldán T.J., Sotelo O.B.E., Ballinas D.J., Lopez Z.E.J. 2009. Plantas comestibles no convencionales en Chiapas, México. *Revista de Salud Pública y Nutrición*. 10(2):1-10.

Collao C.A., Curotto E., Zúñiga M.E. 2007. Tratamiento enzimático en la extracción de aceite y obtención de antioxidantes a partir de semilla de onagra, *Oenothera biennis*, por prensado en frío. *Grasas y Aceites*. 58(1):10-14

Compaoré W.R., Nikiéma P.A., Bassolé H.I.N., Savadogo A., Mouecoucou J., Hounhouigan D.J., Traoré S.A. 2011. Chemical composition and antioxidative properties of seeds of *Moringa oleifera* and pulps of *Parkia biglobosa* and *Andansonia digitata* commonly used in food fortification in Burkina Faso. *Current Research Journal of Biological Sciences*. 3(1):64-72.

Conn, E., Stumpf, P.K. 1996. Bioquímica Fundamental. Cuarta edición. México. Editorial Limusa S.A.de C.V. p.131-134



Cruz V.C.A. 2004. Valor nutritivo de alientos no convencionales del municipio de Ocozocoautla de Espinosa, Chiapas. Tesis de Licenciatura de Nutrición. UNICAH.p. 28,54,60,68-69.

De Moura J.M.L.N., Campbell K., Mahfuz A., Jung S., Glatz C.E., Jhonson L. 2008. Enzyme-assisted aqueous extraction of oil and protein Fromm soybeands and cream de-emulsification. Journal of American oil Chemists' Society. 85:985-995

Devia P.J.E. 2003. Proceso para producir pectinas críticas. Revista Universidad EAFIT. 129:21-30.

Domínguez, H., Nuñez, M. J., Lema, J.M. 1995. Procesado acuoso de soja con tecnología enzimática: extracción de aceite y producción de aislados. Grasas y Aceites, International Journal of Fats and Oils. 46(1):11-20.

Environmental Protection Agency (EPA). 2001. National emissions standards for hazardous air pollutants: Solvent extraction for vegetable oil production; 40 CFR Part 63. Final Rule. Federal Register 66:19005-19026.

Fawzy R.M., Thomas M.J. 2009. Oil extractability from enzymatically treated goldenberry (*Physalis peruviana* L.) pomace: range of operational variables. International Journal of Food Science and Technology. 44:435-444.

Flores H.,O, Riveros R.,H., Sosa P.,A., Vázquez C.,E. 2004. Estructura, función e ingeniería molecular de enzimas implicadas en la digestión de carbohidratos. Universidad Nacional Autónoma de México. Cd Universitaria, México,DF, México. 28:61-64.

Francis G., Edinger R., Becker K. 2005. A concept for simultaneous wasteland reclamation, fuel production, and socio-economic development in degraded areas in India: Need, potential and perspectives of *Jatropha* plantations. Natural Resources Forum. 29:12-24.



Ghodsvali A., Khodaparast H., Hosein ., Levente L.D 2009. Aqueous extraction of virgin olive oil using industrial enzymes. Food Reseach International.42(1):171-175.

González G.Y., González R.O., Nungaray A.J. 2005. Potencial del bagazo de agave tequilero para la producción de biopolímeros y carbohidrasas por bacterias celulolíticas y para la obtención de compuestos fenólicos. Revista Digital Científica y Tecnológica. 3(14):1-18.

Grasso F., Maroto B., Camusso C. 2006. Pretratamiento enzimático de expandido de soya para la extracción de aceite con solvente. Información Tecnológica.17(3):41-46.

Guerra E.G., Zúñiga M.E. 2003. Tratamiento enzimático en la extracción de aceite de pipa de uva, *Vitis vinífera*, por prensado en frío. Grasas y Aceites. 54(1):53-57.

Gutiérrez B.G. 1994.  *Icacinaceae*. Flora de Veracruz. Acta Botánica Mexicana. 80:1-16.

Heller J. 1996. Physic nut (*Jatropha curcas* L.) promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. 1. Gatersleben: Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research/ Rome: International Plant Genetic Resources Institute. ISBN 92-9043-278-0. p10-15.

Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. 2005. Tuxtla Gutiérrez Chiapas, México.

Johnson L.A., Lucas E.W. 1983. Comparison of alternative solvents for oils extraction. Journal of the American oil chemists' Society. 60:229-242.



Kapchie V.N., Wey D., Hauck C., Murphy P.A. 2008. Enzyme-assisted aqueous extraction of oleosomes from soybeans (*Glycine max*). Journal of Agricultural and Food Chemistry. 56:1766-1771.

Kemper T.G. 2005. Oil extraction in F. shahidi Bailey's industrial oil and fat product. Vol. 5. 6<sup>th</sup> edn. Ed John Wiley & Sons, New York. p. 11.

Lascurain., Angeles-Álvarez G., Ortega-Escalona F., Ordoñez-Candelaria V.R., Ambrosio M., Avendaño S. 2007. Características anatómicas y propiedades mecánicas de la madera de *Oecopetalum mexicanum* Greenm & C.H Thomps. (Icacinaceae) de la sierra de Misantla, Veracruz, México. Madera y Bosques. 13(02):83-95.

Latif S., Anwar F. 2008. Quality assessment of *Moringa concanensis* seed oil extracted through solvent and aqueous-ensytic techniques. Grasas y Aceites. 59(1):69-75.

Lenhinger, A.L. 2003. Bioquímica, las bases moleculares de la estructura y función celular. Segunda edición. Barcelona. Editorial omega. p 189-190.

Makkar H.P.S., Becker K., Schomook B. 1988. Edible provenances of J. curcas from Quintana Roo state of México and effect of roasting on antinutrient and toxic factor seeds. Plant Food for Human Nutrition. 52:31-36.

Martínez, H.J. 1987. Catalogo de nombres vulgares y científicos de plantas mexicanas. Fondo de Cultura Económica. México. p. 1247.

Matos C.A., Acuña H.J. 2010. Influencia del tiempo, tamaño de partícula y proporción sólido líquido en la extracción de aceite crudo de la almendra de durazno (*Prunus pérsica*). Revista de Investigación en Ciencia y Tecnología.



Medina A.M.E. 2000. *Icacinaceae*. Bioclimatología de flora de Veracruz. Acta botánica. 23:30-57.

Mejía-Giraldo L.F., Martínez-Correa H.A., Betancourt-Gutiérrez J.E., Castrillón-Castaño C.E. 2007. Aprovechamiento del residuo agroindustrial del mango común (*Mangifera indica* L.) en la obtención de azúcares fermentables. Ingeniería y Ciencia. 3(06):41-62.

Moreau R.A., Johnston D.B., Powell M.J., Hicks K.B. 2004. A comparison of commercial enzymes for the aqueous enzymatic extraction of corn oil from corn germ. Journal of the American Oil Chemists' Society. 81:1071-1075

Ovando-Chacón S.L., Waliszewski K.N. 2005. Preparativos de celulasas comerciales y aplicaciones en procesos extractivos. Universidad y Ciencia. 21(42):113-122.

Picuric-jovanovic. K, Z Vrbaski, and M. Milovanovic, 1997. Aqueous-enzymatic extraction of plum kernel oil. Fett-Lipid. 99:133-135

Quintas G.S. 2005. Fundamentos para el manejo y aprovechamiento de *Oecopetalum mexicanum* Greeman & Thompson (*Icacinaceae*), en Pueblo Viejo, municipio de Misantla, Veracruz. Manejo Forestal. Facultad de Ciencias Agrícolas. Universidad Veracruzana. Tesis de Licenciatura. p. 30-35.

Reporte técnico. Alfaro Cruz S.G. 2012. Hidrólisis de la *Jatropha curcas* con carbohidrasas comerciales para mejorar la extracción del aceite. p. 1, 11-16.

Reporte técnico. Bernal-Astorga A. 2011. Perfil comercial: Compilación de *Jatropha curcas*. p. 10,15.



Reporte Técnico. Octagón S.A., Biocombustibles. 2006. *Jatropha curcas* su expansión agrícola para producción de aceites vegetales con fines de comercialización energética. p. 9-12.

Reporte Técnico. Van der Putten E., Franken Y.J., Jongh J. 2009. Manual de *Jatropha*, versión en español. *Fuels from Agriculture in Communal Technology* p. 7-12.

Reverchon E., De Marco I. 2006. Supercritical fluid and fractionation of naterre matter. *Journal of supercritical fluids*. 38(22):146-166

Rosenthal A., Pyle D.L., Niranjana K. 1996. Aqueous and enzymatic processes for edible oil extraction. *Enzyme and Microbial Technology*. 19(6):402-420.

Sandoval-Aldana, A., González-Venegas, M.E., Forero-Longas, F. 2009. Efecto del tratamiento enzimático en la extracción de aceite de aguacate (*Persea americana* Mill). Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria, CORPOICA espinal, Colombia. p. 1-5.

Sant'Anna B.P.M., Freitas S.P., Coelho M.A.Z. 2003. Enzymatic aqueous technology for simultaneous coconut protein and oil extraction. *Grasas y Aceites*. 54(1):77-80

Schwartz, J.A. Olaeta, P. y Undurraga V. C. 2007. Mejoramiento del rendimiento de extracción de aceite de palta (aguacate). *Proceedings VI World Avocado Congress* Santiago, Chile. p.1-8.

Shi L., Lu J., Jones G., Loretan P.A., Hill W.A. 1998. Characteristics and composition of peanut oil prepared by an aqueous extraction method. *Life Support Biosphera of Science Journal*. 5:225-229.



Solis-Fuentes, J.A., Tapia-Santos, M., Durán-de-Bazúa, M.C. 2001. Aceite de almendra de zapote mamey, un análisis de rendimientos y condiciones de extracción. *Información Tecnológica*. 12(6):23-28.

Sosulski K., Bargale P.C., Sosulski F.W. 2000. Enzymatic hydrolysis of soybean for solvent and mechanical oil extraction. *Journal of Food Process Engineering*. 23:321-327.

Taha F.S., Hassanein M.M. 2007. Pretreatment of cottonseed flakes with proteases and an amylase for higher oil yields. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 58(3):297-306.

Taha F.S., Youssef E.A.A., Omar S. 2002. Preliminary studies on the enzymatic treatment of cottonseed for higher oil yield. *Journal of the Science of Food Agriculture*. 58(3):297-306.

Trevejo C.E., Maury L.MI. 2002. Extracción y caracterización del aceite de *Poraqueiba serícea Tulasne* (Umarí). *Revista Amazónica de Investigación Alimentaria*. 2(2):1-18.

Wang Y., Wang Z., Cheng S., Han F. 2008. Aqueous enzymatic extraction of oil and protein hydrolysates from peanut. *Food Science and Technology Research*.14(6):533-540.

Ward J.A. 1976. Processing high oil content seeds in continuous screw presses. *Journal of American Oil Chemist's Society*. 53:261-264.

Zúñiga M.E., Soto C., Mora A., Chamy R., Lema J.M. 2003. Enzymatic pre-treatment of *Guevina avellana* mol oil extraction by pressing. *Process Biochemistry*. 39:51-57.

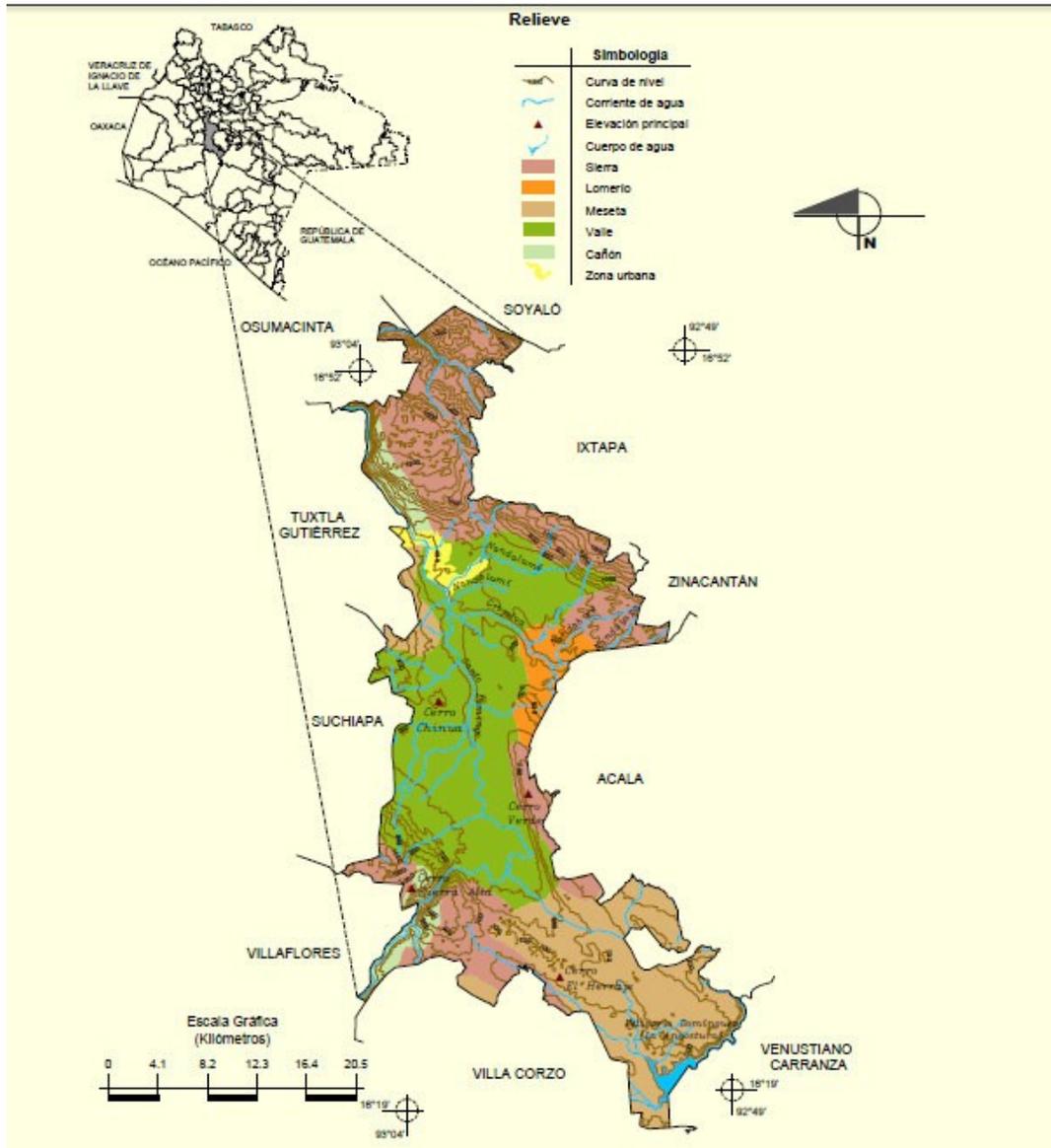
## Capítulo 8.- ANEXOS



### 8.1 Polo Tecnológico Nacional para el Desarrollo de Investigación y Pruebas Analíticas en Biocombustible



## 8.2 Entrada principal del Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez



8.3 Relieve y colindancias del municipio de Chiapa de Corzo, Chiapas.



8.4 Semillas de *Jatropha curcas* seleccionadas por inspección





8.6 Centrifuga Eppendorf