



Extracción y evaluación de la fracción lipídica de la semilla del árbol de orejero (*Enterolobium cyclocarpum*).

*Extraction and evaluation of lipid fraction of orejero tree seed (*Enterolobium cyclocarpum*).*

J.Barrios Cárdenas ¹
L. Buelvas Sarmiento ²
R. Olivero Verbel ³

Resumen

Se realizó la extracción y caracterización de la fracción lipídica de la semilla de Orejero (*Enterolobium cyclocarpum*), obtenida por lixiviación mediante la técnica soxhlet, utilizándose Hexano e Isopropanol al 99.9% v/v y el número de ciclos extractivos 8 y 12 para el Hexano, 10 y 14 para Isopropanol. Los parámetros físicos determinados fueron: densidad (0.92g/cm³) e índice de refracción (1.42 a 25 °C) y los químicos fueron: índice de yodo (116.36 g de I₂/g), índice de saponificación (183.16 mg KOH/g), índice de acidez (14.32 % de ácido Oleico) e índice de peróxidos (16.21 meq O₂/kg) y un perfil de ácidos grasos por cromatografía de gases. El aceite de Orejero presenta similitudes en sus propiedades fisicoquímicas respecto a otros aceites comerciales, tales como soya, canola, maíz y girasol.

Palabras claves

Enterolobium cyclocarpum, soxhlet, Perfil de ácidos grasos, aceite.

Abstract

The extraction and characterization of the lipid fraction of the Orejero (*Enterolobium cyclocarpum*) seed obtained by leaching using the soxhlet technique was performed using Hexane and Isopropanol at 99.9% v / v and the number of extractive cycles 8 and 12 for Hexane, 10 and 14 for Isopropanol. The physical parameters determined were: density (0.92g / cm³) and refractive index (1.42 at 25 ° C) and the chemicals were: iodine index (116.36 g I₂ / g), saponification index (183.16 mg KOH / g), Acidity index (14.32% oleic acid) and peroxide index (16.21 meq O₂ / kg) and a fatty acid profile by gas chromatography. Orejero oil exhibits similarities in its physico-chemical properties compared to other commercial oils, such as soy, canola, corn and sunflower.

Keywords

Enterolobium cyclocarpum, soxhlet, Profile of oily acids, Oil.

¹ Universidad del Atlántico, ingeniero Agroindustrial.

² Universidad del Atlántico, ingeniero Agroindustrial.

³ Universidad del Atlántico, Docente programa Ingeniería Agroindustrial.



Introducción

El Orejero (*Enterolobium cyclocarpum*), es un árbol originario de América que se produce en las zonas tropicales, recibe diversos nombres como guanascate (Honduras), parota (México), piñón de oreja y carito. Pertenece a la familia de las Fabaceae (leguminosas), de las cuales tiene una amplia utilización en la reforestación y restauración de zonas selváticas degradadas, dispersos como sombra y ramoneo para áreas ganaderas.

En la actualidad el Orejero presenta múltiples aplicaciones que respectan a sus propiedades alimenticias, ecológicas, agroindustriales y medicinales, mientras que desde sus frutos verdes es posible obtener glucósidos de esteroides o de triterpenoides denominadas saponinas, a partir de las cuales es posible obtener jabón artesanal.

Tabla 1.
Clasificación Taxonómica del Enterolobium cyclocarpum

Reino	Plantae
Phyllum	Spermatophyta
Subphyllum	Magnoliophytina
Clase	Magnoliopsida
Subclase	Rosidas
Familia	Mimosáceae
Genero	Eterolobium
Especie	Cyclocarpum

Los aceites vegetales están constituidos por ésteres de glicerol de ácidos grasos llamados triglicéridos. Los ácidos palmíticos oleicos y esteáricos son los más frecuentes en los aceites vegetales, pero la gama de ácidos grasos presentes en cantidad considerable en los aceites que se emplean comúnmente, van desde el ácido octanóico, que se encuentra en niveles de 5.0 a 10.0% en el aceite de coco, hasta el ácido erúico, que puede estar presente en niveles máximos de 50.0% en ciertas variedades de aceite de colza, Las principales

fuentes vegetales de aceite son las semillas y los frutos oleaginosos. La diferente composición y estructura de ambas condiciona el procesado al que se someten con el fin de extraer el aceite.

En la actualidad no se registran estudios de la caracterización y/o usos del aceite de la semilla de orejero, por tal razón, en este trabajo se realizó la extracción del aceite contenido en semillas de esta planta, mediante el método convencional (soxhlet) utilizando dos tipos de solventes orgánicos (Hexano e Isopropanol). Se realizaron análisis de las propiedades fisicoquímicas presentes del producto extraído, entre ellos índice de acidez, de yodo, saponificación, de peróxidos, su densidad e índice de refracción; con la ayuda de un cromatógrafo de gas acoplado a masa, se registró el perfil de los ácidos grasos constituidos en el aceite de esta semilla.

Metodología

Acondicionamiento de la materia prima utilizada y extracción del aceite.

a) Acondicionamiento y extracción de la semilla del fruto de *E. cyclocarpum*.

Recepción: Los frutos se recolectaron en el

municipio de Concordia, Magdalena (Colombia), estas fueron empacadas en bolsas, para poder ser transportadas hacia el lugar donde se realizó su acondicionamiento, allí se almacenaron en un lugar fresco para su posterior adecuación.

Selección: Este paso se realizó teniendo en cuenta la sanidad de los frutos, se descartaron aquellos que contaban con perforaciones de plagas o extrema humedad para seguir dentro del proceso.

Extracción de la semilla: Para extraer las semillas del fruto, éstos fueron secados al sol directo sobre bandejas durante 3 días, para facilitar su extracción.

Limpieza y enjuague: Se eliminaron de las semillas cualquier impureza presente en estas (semillas vanas, trozos de material vegetal y/o piedras). Posteriormente se realizó un enjuague por inmersión para asegurar la eliminación de cualquier otra impureza no retirada de modo manual.

Secado: Finalmente se realizó un secado superficial a la semilla mediante la exposición al sol directo y sobre bandejas

b) Reducción de Tamaño de la semilla de *E. cyclocarpum* para facilitar la extracción del aceite.

Pesado 1: Este proceso fue llevado a cabo en una balanza analítica Pioneer OHAUS, para tener en cuenta la cantidad (gramos) de semillas que fueron molidas y así efectuar los balances de materia. En este caso la cantidad fue 2.24 g de semilla.

Cocción: Se realizó con el fin de ablandar el pericarpio y facilitar el rompimiento de las vacuolas para la extracción del aceite, a una temperatura de 100.0°C por un tiempo estimado de 3 horas.

Estrujado: Proceso que se hizo para retirar manualmente el pericarpio blando de la semilla, el cual se efectuó posterior a la cocción, donde se obtuvo la almendra.

Secado: Las almendras fueron esparcidas sobre bandejas y expuestas al sol, más tarde fue llevada a un horno desecador a un lapso de 5 horas, a temperatura de 50.0 °C para disminuir la humedad la cual debe ser inferior a 12.0% humedad en base seca.

Molienda: La reducción de tamaño final se llevó a cabo posteriormente al secado de la almendra, esto se realizó con un molino manual de discos, hasta obtenerse una harina fina de tamaño uniforme.

Pesado 2: La cantidad total de almendra molida (harina), fue pesada en la misma balanza analítica pioneer OHAUS dando un total de 1100.0g, la cual se

tomó en cuenta para el cálculo del producto a utilizar en la extracción y tomada para los balances de materia.

c) Extracción del aceite de *E. cyclocarpum* usando el método de extracción por solvente – Método Soxhlet.

Debido al método utilizado, se especificaron las variables y constantes, contenidas en la tabla 2, como parámetros para el aseguramiento de la calidad de la fracción lipídica de la semilla de Orejero dentro del marco de la investigación.

Tabla 2.

Especificaciones de las variables para el proceso de extracción utilizando la técnica Soxhlet

Solvente	Temperatura*			Numero de ciclos extractivos**		
	70	82	8	10	12	14
Hexano	X		X		X	
Isopropanol		X		X		X

*En grados Celsius (°C).

** Número de sifonados para cada solvente.

Pesado: La cantidad de harina que se tomaron para cada muestra fueron de 40 g, ésta se llevó a cabo en la misma balanza analítica Pioneer OHAUS teniendo en cuenta el tamaño de la cámara de extracción del equipo soxhlet.

Extracción de aceite: una vez se pesaron las muestras, se procedió a depositarlas en cartuchos de papel filtro previniendo pérdidas de muestra. Se tomó un volumen de 250 ml del solvente en el balón de destilación. El volumen empleado fue suficiente para evitar que el proceso se saturara. Se armó el equipo y se procedió a calentar el solvente sobre una manta calefactora Gas-Col TM106, controlada por un minitrol Gas-Col PL312, manejando las temperaturas según el solvente especificado en la tabla 7. Se mantuvo el goteo de solvente a una velocidad ≥ 150 gotas por minuto.



Evaporación del solvente: culminado el proceso de extracción, se desarmó el equipo y se llevó el balón con contenido del solvente y aceite a un Roto-evaporador (diagonal) Hei-VAP Advantage HL – Heidolph, ajustando factores como temperatura y presión según el solvente.

Medición de aceite extraído: Se pesó el balón y se calculó el contenido graso según la fórmula:

Donde P1 = peso en gramos del eppendorf, P2 = peso del eppendorf en gramos conteniendo el extracto y PM = peso en gramos de la muestra.

Tabla 3.

Datos requeridos para la experimentación, con K tratamientos y n repeticiones (Ks,c).

Tratamiento K (Rendimiento) con “n” repeticiones							Prom
n	1		2		3		
	K1.1	K1.2	K1.1	K1.2	K1.1	K1.2	Ktotal
	K2.1	K2.2	K2.1	K2.2	K2.1	K2.2	Ktotal

Dónde: (Ks,c) s es solvente, c es el ciclo de extracción

Análisis y caracterización del aceite extraído de la almendra de la semilla de e. Cyclocarpum.

La calidad del aceite extraído se determinó mediante la medición de factores físicos como la densidad, índice de refracción. Factores químicos como índice de acidez, índice de yodo, índice de saponificación e índice de peróxido, demostrado en la siguiente tabla.

Tabla 3.

Análisis para la caracterización del aceite de E. cyclocarpum según norma ICONTEC

Factores	Análisis	Método
Físicos	Densidad	NTC 336:2002
	Índice de refracción	NTC 289:2002
Químicos	Índice de acidez	NTC 218:2011
	Índice de yodo	NTC 283:2012
	Índice de saponificación	NTC 335:1998
	Índice de peróxido	NTC 236:2011

Resultados y discusión

De acuerdo a los objetivos trazados para la presente investigación, se obtuvieron múltiples resultados en la caracterización de la fracción lipídica extraída de la semilla de Orejero, a través de una separación sólido-líquido, mediante la utilización de dos solventes: Hexano a 99.90% e Isopropanol 99.97% de pureza, evaluando los posibles efectos que estos pueden atribuir al aceite extraído de esta semilla.

Caracterización dimensional.

En la caracterización dimensional de la semilla y la almendra del fruto de Orejero expresada en la Tabla siguiente, demuestra que el 55.0% de la masa de la semilla, corresponde a la almendra.

Tabla 4.

Caracterización Dimensional de la semilla de Orejero.

Materia	Dimensiones	Promedio	Desviación estándar
Semilla	Largo (cm)	1.31	0.125
	Ancho (cm)	0.90	0.055
	Masa (g)	0.65	0.085
Almendra	Largo (cm)	1.37	0.081
	Ancho (cm)	0.80	0.048
	Masa (g)	0.36	0.063

Extracción de la fracción lipídica de la semilla de orejero.

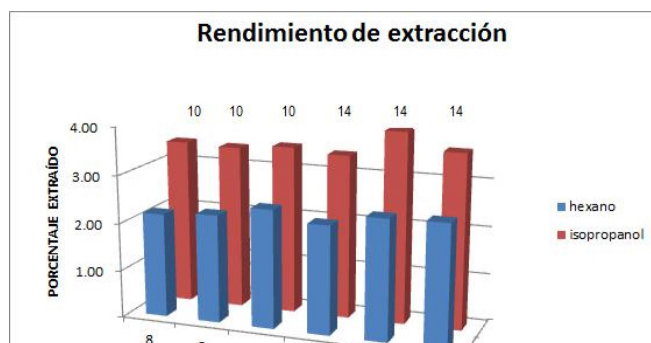
Se adecuó la materia prima y se obtuvo una harina la fue secada en un horno a 50.0 °C por un tiempo de 4 horas con fin de reducir la humedad por debajo de un 10.0% p/p. Se utilizó el método convencional por lixiviación soxhlet.

Se tomaron 40 g de harina de Orejero para cada uno de los 12 experimentos propuestos en

esta investigación, donde se utilizó ciclos extractivos de 8 y 12 para Hexano y 10 y 14 para el Isopropanol, controlando temperaturas de ebullición para cada uno (69 °C y 82 °C). Se tomaron 250 ml de cada solvente, con un tiempo promedio de extracción de 2 horas 20 min y 3 horas 20 min respectivamente.

Una vez terminado el proceso de extracción, las fracciones lipídicas extraídas de cada una de las muestras de harina de Orejero, se sometieron a separación del solvente con la ayuda de un roto-evaporador (diagonal) Hei-VAP Advantage motorlift Heidolph referencia HEID 31004. Finalmente, cada extracto fue secado en un horno eléctrico a temperatura de 50.0 °C por un tiempo de 60 min hasta eliminar el solvente residual, se enfriaron y se pesaron para determinar el rendimiento.

Figura 1. Rendimiento de las extracciones de las fracciones lipídicas de la semilla de Orejero, mediante método Soxhlet con Hexano e Isopropanol.



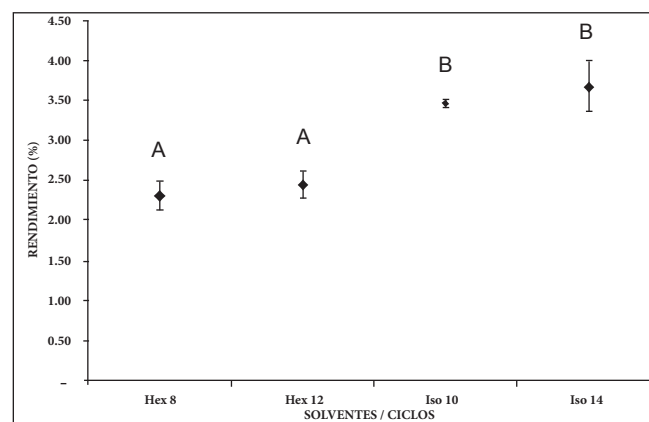
A diferencia del Hexano, el producto de la percolación por lixiviación con el Isopropanol, presentaba un precipitado lo cual influyó en el rendimiento de la extracción con este solvente polar, razón por la cual extrajo componentes ajenos al lipídico. La centrifugadora Hettich Universal 320R fue la que se empleó para realizar este proceso a condiciones de -10.0 °C a 2000 rpm por un tiempo de 10 minutos.

A continuación, se muestran la Tabla 5 y las Figuras 2, donde se observan los efectos estadísticamente significativos y en la tabla 6 el análisis de las varianzas de los datos producto de la extracción de aceite de esta investigación, utilizando el paquete estadístico INFOSTAT.

Tabla 5. Correlación del parámetro Rendimiento de extracción entre Hexano e Isopropanol

Variable	N	R2	R2 Aj.	Coef. de Variación
Rendimiento	12	0.95	0.93	5.99

Figura 2. Medias del parámetro de Rendimiento de extracción entre Hexano e Isopropanol.



*Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

De la Tabla 5 se puede observar que el porcentaje de variación de la variable rendimiento $R^2 = 0.95$, lo cual nos indica que el modelo se ajusta a los datos. Del mismo modo en la Figura 2 se puede analizar de



manera visual que no hay diferencias significativas entre los resultados obtenidos con las condiciones establecidas para la extracción con Hexano a 8 y 12 ciclos, de igual forma para las condiciones trabajadas con Isopropanol con ciclos extractivos de 10 y 14 pero, claramente se puede ver que entre solventes si existe diferencias.

Tabla 6.

Resultado ANOVA del parámetro Rendimiento de extracción

F. V.	SC	g L	CM	F	p-valor
Modelo	4.42	3	1.47	46.47	<0.0001*
Sol	4.32	1	4.32	136.39	<0.0001*
Ciclos	0.10	2	0.05	1.51	0.2774
Error	0.25	8	0.03		
Total	4.67	1			

*Indica una diferencia significativa

En la Tabla 6 se muestra los resultados del análisis de varianza con una suma de cuadrados de Tipo (I) del cual nos enseña que el p-valor entre los solventes es menor a 0.05 lo cual indica que hay un efecto estadísticamente significativo entre Hexano e Isopropanol pero, entre ciclos, con un p-valor igual a 0.2774 que es mayor a 0.05, No hay efectos estadísticos significativos. Esto permite complementar las observaciones realizadas a la Figura 2 expuesta anteriormente. Cabe notar que los datos fueron normalizados y homogeneizado por medio del test de normalidad de Shapiro Wilk.

Perfil de ácidos grasos de la fracción lipídica de la semilla de orejero

Se determinó mediante cromatografía de gases teniendo en cuenta dos muestras. La primera muestra de aceite fue tomada del producto de la metodología propuesta en esta investigación (Soxhlet), En la cual nos muestra que los ácidos grasos insaturados

representan un 71.14%, siendo el ácido linoleico (poliinsaturado) y el ácido Oleico (monoinsaturado) los de mayor proporción. El 27.3% de los ácidos grasos, son saturados, donde sobresale el ácido margárico.

Tabla 7.

Perfil de ácidos grasos de la fracción lipídica de la semilla de Orejero extraída por método Soxhlet, por Cromatografía de gases.

Ácidos grasos	Abreviatura	T. de retención (min)	(%)
Ác. palmitoleico	C16:1	14,25	0,62
Ác. palmítico	C14:0	14,68	5,35
Ácido cisvaccénico	C18:1	15,52	0,27
Ác. margárico	C17:0	15,89	10,33
Ác. oleico	C18:1	18,52	14,71
Ác. esteárico	C18:0	18,64	7,35
Ác. vaccénico	C18:1 tr 11	19,24	2,83
Ác. linoleico	C18:2	20,16	55,54
Ác. araquídico	C20:0	24,17	0,80
Ác. behénico	C22:0	29,12	0,64

MÉTODO CROMATOGRAFIA DE GASES

La segunda muestra de aceite fue tomada de una extracción pasiva por inmersión en frio, en el que se utilizó hexano como solvente; método que fue tenido en cuenta con el objeto de comparar el efecto que tuvo el aplicar calor. En la Tabla 8, se puede observar los ácidos grasos encontrados en la muestra de aceite extraída en frio, donde los insaturados representan el 73.1% y los saturados un 20.73%. A diferencia de la primera muestra de aceite analizada, en esta segunda muestra, se evidencia el aumento del 9.0% de Ácido Oleico, confiriéndole mayor resistencia ante la oxidación lipídica, además de presentar propiedades beneficiosas para aumentar los niveles de colesterol bueno (LDL).

Tabla 8.

Perfil de ácidos grasos de la fracción lipídica de la semilla de Orejero por extracción pasiva en frío, por Cromatografía de gases.

Ácidos grasos	Abreviatura	T. de retención (min)	(%)
Ácido Caprílico	C8:0	4,282	0,00
Ácido Caproico	C6:0	4,64	0,00
Ácido Caprico	C10:0	5,368	0,00
Ácido Laurico	C12:0	6,65	0,00
Ácido Mirístico	C14:0	8,747	0,00
Ácido Palmítico	C16:0	11,69	12,76 813
Ácido co	C16:1	12,619	1,830
Ácido Estearico	C18:0	15,449	7,969 13
Oleico	C18:1	16,25	050
Ácido Elaidico	C18:1 tr 9	17,3	0,00
Ácido Linoleico	C18:2	17,783	45,32 954
Ácido Linolenico	C18:3	19,435	2,187 43

Análisis fisicoquímico de la fracción lipídica de la semilla de orejero.

Se puede observar en la tabla 9 la descripción de las propiedades físico-químicas de la fracción lipídica de la semilla de orejero, además, Estos parámetros fisicoquímicos fueron evaluados con normativa nacional para aceites vegetales, con el fin de observar las semejanzas y diferencias que el aceite de Orejero tiene con respecto a otros aceites comerciales, en la tabla 10 se puede verificar estas similitudes y deferencias.

Tabla 9.

Resultados de análisis fisicoquímicos de la fracción lipídica de la semilla de Orejero.

Análisis Realizado	Resultados	Metodo Utilizado
% Acidez como oleico	14,32	NTC 218
% Humedad	0,26	NTC 287
Índice Saponificación mg KOH/g	183,16	NTC 335
Índice de yodo g/100g	116,36	NTC 283
Índice de peróxido mEq O ₂ /Kg	16,21	NTC 236
Densidad en g/cc 25 °C	0,9244	NTC336
Índice refracción	1,4212	NTC 289

Tabla 10.

Comparación de propiedades fisicoquímicas del aceite de Orejero con respecto a otros aceites.

Aceite de	Densidad	Í. de refracción	Í. de saponificación	Í. de yodo
Orejero	0,9244	1,4212	183,16	116,36
Coco	0,908 0,926	-1,448 1,450	-248 - 265	6,3 - 10,6
Maíz	0,917 0,925	-1,465 1,468	-187 - 195	103 - 135
Palma	0,891 0,899	-1,454 1,456	-190 - 209	50,0 - 55,0
Canola	0,910 0,920	-1,465 1,469	-168 - 181	105 - 126
Soya	0,919 0,925	-1,466 1,470	-189 - 195	124 - 139
Girasol	0,918 0,923	-1,461 1,468	-188 - 194	118 - 141
oliva	0,910 0,916	-1,467 1,470	-184 - 196	75-94

Conclusión

El contenido graso en las semillas de Orejero proveniente del municipio de Concordia – Magdalena, fue de 2.4% en base seca, siendo el hexano el solvente con mejor resultado en este estudio ya que fue manifestó ser más lipofílico.



Se realizó la caracterización de la fracción lipídica de la semilla de Orejero por primera vez; de acuerdo a los resultados arrojados en los análisis fisicoquímicos, presentaron similitudes con aceites comerciales.

El índice de acidez reportado en el análisis realizado a la fracción lipídica estudiada fue de 14.32 en % de ácido Oleico cuyo valor está por encima de lo permitido en la normativa internacional, esto debido a la extracción con solvente, a la aplicación de altas temperaturas y el contacto con el oxígeno, fomenta la descomposición de las cadenas de triglicéridos ayudando a la formación de ácidos grasos libres.

El Isopropanol extrajo sustancias no grasas ajenas al objetivo de esta investigación (aceite), a diferencia del hexano que fue más selectivo al momento de la extracción.

De acuerdo al perfil de ácidos grasos obtenido por medio de cromatografía de gases, la fracción lipídica de la semilla de Orejero presentó un contenido ácidos grasos insaturados de 71.14% siendo el Oleico (14.71%) y el linoleico (55.54%) los de mayor proporción. Además, se pudo demostrar que, el no aplicar Calor aumentó de manera significativa el contenido de ácido Oleico a un 23.74%.

En cuanto a las propiedades fisicoquímicas del aceite de orejero, se encontraron similitudes con respecto a los valores de la densidad, índice de saponificación e índice de yodo de los aceites comerciales de soya, canola, maíz y girasol; del cual se sugiere su uso en la industria alimentaria, considerando un previo análisis toxicológico

Bibliografía

CORPODIB. Evaluación de las variedades más promisorias para la producción de aceite vegetal y su potencial implementación en Colombia. Bogotá – Colombia, abril, 2012.

HORWITZ, W. En: Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. Wisconsin, USA 2011. Volumen 16, No. 1-2.

SERRATO ARÉVALO, Juan Carlos. Aislamiento y caracterización de proteínas de las semillas maduras de *Enterolobium cyclocarpum* para su aprovechamiento alimenticio. Tesis para obtener el grado de doctor en ciencias pecuarias. Colima, México. Universidad de Colima, 2001. 67 p

GRASSO, Florencia Verónica. Diseño del proceso: Pretratamiento enzimático para extracción de aceites vegetales en un extractor de columna. Tesis para optar al grado de Doctor en Ingeniería. Buenos Aires – Argentina: Universidad Nacional de La Plata. Facultad de ingeniería. Departamento de ingeniería química, 2013. 187 p

INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMALIZACIÓN Y CERTIFICACIÓN. Grasas y aceites animales y vegetales. Método de la determinación de la densidad (masa por volumen convencional). NTC 336. Bogotá D.C.: El Instituto, 2002. 14p.

INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMALIZACIÓN Y CERTIFICACIÓN. Grasas y aceites animales y vegetales. Determinación del índice de refracción. NTC 289. Bogotá D.C.: El Instituto, 2002.

INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMALIZACIÓN Y CERTIFICACIÓN. Grasas y aceites animales y vegetales. Determinación del índice de yodo. NTC 283. Bogotá D.C.: El Instituto, 1998. 6p.

INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMALIZACIÓN
Y CERTIFICACIÓN. Grasas y aceites animales y
vegetales. Determinación del índice de
saponificación. NTC 335. Bogotá D.C.: El
Instituto, 1998. 7p.

INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMALIZACIÓN
Y CERTIFICACIÓN. Grasas y aceites animales
y vegetales. Determinación del índice de
acidez y de la acidez. NTC 218. Bogotá D.C.:
El Instituto, 1999. 14p.

INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMALIZACIÓN
Y CERTIFICACIÓN. Grasas y aceites animales
y vegetales. Determinación del índice de
peróxido. NTC 236. Bogotá D.C.: El Instituto,
2011. 17p.

CODEx ALIMENTARIUS. Norma para aceites
vegetales especificados Codex Stan 210-1999.
14p.